Struktur und Funktion von Synapsen und synaptischen Grana in Gastropodennerven

DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
DER MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT ZU GÖTTINGEN

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

VORGELEGT VON
WOLFGANG HANNEFORTH
AUS BIELEFELD

GÖTTINGEN 1964

D 7
Referent: Privatdozent Dr. Schlote
Korreferent: Prof. Dr. Birukow
Tag der mündlichen Prüfung: 31. 7. 1964

Zeitschrift für vergleichende Physiologie 49, 485—520 (1965)

Aus dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie des 1. Zoologischen Institutes der Universität Göttingen

STRUKTUR UND FUNKTION VON SYNAPSEN UND SYNAPTISCHEN GRANA IN GASTROPODENNERVEN*

Von

WOLFGANG HANNEFORTH

Mit 22 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Oktober 1964)

A. Einleitung

Die peripheren Nerven von Gastropoden und Lamellibranchiaten sind durch eine innige Verflechtung von Gliazellen und Neuronen gekennzeichnet (SCHNEIDER 1908, SCHLOTE 1957, FÄHRMANN 1961, BATHAM 1961). Sie leiten summarisch mit Dekrement (KRIJGSMAN 1941, SCHLOTE 1955, BAXTER und NISBET 1962). Außerdem deuten lichtmikroskopische Befunde auf das Vorkommen bi- und multipolarer Neurone hin (SCHLOTE 1955). Dennoch gelang es bisher nicht, die Eigenschaften der sicherlich in diesem Nerven enthaltenen Synapsen zu charakterisieren, ja sie überhaupt physiologisch einwandfrei nachzuweisen. Durchgehende leitende Elemente sind dagegen mit Sicherheit vorhanden (RIPPLINGER 1951, SCHLOTE 1955).

Zahlreiche Fasern des Nervus intestinalis von *Helix pomatia* führen neurosekretartige Grana (SCHLOTE und HANNEFORTH 1963). In einigen Axonen fanden sich außerdem membranumgrenzte Bläschen, die den „synaptic vesicles" anderer Tiere ähneln. Sie entstehen hier jedoch offenbar aus Abfaltungen der Zellgrenzmembran (SCHLOTE und HANNEFORTH 1963). Da sie anscheinend nur selten in eng umschriebenen Gebieten von Axonen gehäuft auftreten (SCHLOTE 1955), im Cytoplasma der Gliazellen aber ähnliche Bläschen vorkommen (SCHLOTE und HANNEFORTH 1963), kann man hier über ihre Funktion nichts aussagen. Dasselbe gilt aber auch für die neurosekretartigen Grana, denen sowohl Hormon- (NOLTE 1964 für *Helix p.*) als auch Transmittergehalt (SCHLOTE 1963 für die Nerv-Muskel-Verbindung von *Helix p.*) nachgesagt wird. Man wird deswegen im elektrophysiologischen Versuch prüfen müssen, ob ein Gastropodennerv vielleicht Synapsen eines besonderen Typs enthält. Diesem Zweck dient die vorliegende Arbeit.

* Teilergebnis aus der gleichlautenden Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen.

Die Untersuchungen wurden durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft. Herrn Prof. Dr. G. BIRUKOW danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes, Herrn Priv.-Doz. Dr. FR. W. SCHLOTE für die Anregung zu dieser Arbeit. Für die Anfertigung von einem großen Teil der Zeichnungen danke ich Fräulein MECHTHILD HÜLSSE.

B. Methodik

1. Elektronenmikroskopie

Der Nervus intestinalis der Weinbergschnecke wird nach der Methode von KRIJGSMAN (1941) herauspräpariert und gestreckt in kaltes Fixiergemisch getaucht.

Die Fixierlösungen: 1% OsO_4 oder 0,6% $KMnO_4$ in Veronal-Acetat-Puffer folgender Zusammensetzung: 1,94 g Na-Acetat $\times 3\ H_2O$; 2,95 g Na-Veronal; 3,8 g NaCl; 120 ml n/10 HCl ad 1000 ml H_2O. Ionenstärke der OsO_4-Lösung: 0,105 μ; Ionenstärke der $KMnO_4$-Lösung: 0,125 μ (mit Berücksichtigung der K^+-Ionen); pH: 7,0—7,2. Dauer der Fixation: 2 Std bei +2—4° C. Auswaschen mit Pufferlösung, dann in jedem Fall Nachkontrastieren mit Uranylacetat (2% in dest. Wasser) für 2 Std. Entwässerung über Aceton (bis 70% Aceton in der Kälte); Einbettung über 100% Aceton in Vestopal W, das 0,8% Initiator und 0,4% Aktivator (der Firma M. Jaeger, Vesenaz, Genf) enthält. Die Dünnschnitte der OsO_4-fixierten Präparate werden über Nacht nochmals mit einer 5% Uranylacetat-Lösung (in dest. Wasser) nachkontrastiert, die Dünnschnitte der mit $KMnO_4$-fixierten Präparate für 15—20 min mit Bleihydroxyd (Methode B nach KARNOVSKY 1961). Ultramikrotom: Leitz. Elektronenmikroskop: Siemens, Elmiskop I. Fotomaterial: Agfa-Agepe-Planfilm. Entwickler: Varitol hart.

2. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung

Fixierung mit 6%igem Formol in destilliertem Wasser. Entwässerung über die Alkoholreihe und Methylbenzoat, Einbettung in Paraffin, Vorbehandlung und Färben der 4 μ dicken Schnitte mit Diaethylpseudoisocyaninchlorid (der Firma Harms, Leverkusen) nach STERBA (1961). Die Schnitte wurden nach dem Färben kurz in Ammoniakwasser eingestellt, in Ammoniakwasser eingedeckelt und sofort untersucht. Fluoreszenzeinrichtung: Fotomikroskop Ortholux (Leitz); Lichtquelle: Xenon-Lampe (Leitz); Erregungsfilter: BG 12, 4 mm; Sperrfilter: OG 1; 2,5 mm dick. Filmmaterial: HPS-Ilford (Kleinbildfilm; 30/10 DIN; Belichtungszeit etwa 10 sec). Entwickler: Ilford-Microphen.

3. Elektrophysiologie

Die elektrophysiologischen Versuche wurden während des Winterhalbjahres durchgeführt. Die Weinbergschnecken lebten in Terrarien. Sie wurden durch Temperatur-, Feuchtigkeits- und Ernährungsbedingungen am Winterschlaf gehindert; andere Schnecken wurden aus dem Winterschlaf geweckt und für 2—3 Wochen vor dem Versuch unter den gleichen Bedingungen gehalten.

Nach der Präparation wird der Nerv in mit Eis gekühltem Schneckenblut für 3—4 min aufbewahrt. Als Elektroden dienten wegen der sehr unterschiedlichen Länge der Nerven 10 Silberdrähte, 0,1 mm Durchmesser, die nach MARMONT (1949) unpolarisierbar gemacht und sodann in 2 mm Abstand voneinander auf einen Objektträger aufgeklebt waren. Die Elektroden wurden durch Paraffinstreifen voneinander isoliert. Der Nerv lag maximal gestreckt über 6—8 der Elektroden in einer luftdichten, feuchten Kammer. Die Berührungsstellen mit den einzelnen Elektroden wurden mit je einem Tropfen Helixblut befeuchtet, so daß der Nerv nicht festkleben konnte. Das caudale Ende des Nerven wurde durch Aufbringen eines Tropfens Helixblut, dem ein KCl-Kristall zugesetzt war, depolarisiert. Hier tauchte die indifferente Ableitelektrode ein, die differente Elektrode befand sich 4—6 mm weiter cranial. Zwischen differenter und indifferenter Elektrode lagen stets 1—2 nicht benutzte weitere Elektroden nebst den zwischengeschalteten Paraffinbrücken. Die Reizelektroden befanden sich am cranialen Ende des Nerven. Sie hatten ebenfalls einen Abstand von 4—6 mm voneinander; Kathode caudal.

Ein über eine Morsetaste gesteuertes Reizgerät lieferte Rechteckimpulse von 1 msec Dauer und einstellbarer Größe. Durch sie wurde ein Hochfrequenzgenerator von etwa 3 MHz angestoßen. An ihn war ein mit einem Trockengleichrichter versehener Schwingkreis lose angekoppelt. Seine beiden Pole lagen unmittelbar an den Reizelektroden. Mit Hilfe dieser Vorrichtung ließ sich der Reizeinbruch in erträglichen Grenzen halten (DONALDSON 1958). Die Reizstärke wurde jeweils so eingestellt, daß der Nerv mit maximaler Erregung antwortete. Sie betrug am Nerven 2—3,6 Volt.

Je nach Versuchslage konnte das Reizgerät durch einen Oscillator mit 4—12/sec angestoßen, aber auch auf Einzelreiz umgestellt werden. In einem Teil der Versuche wurde ein weiterer elektronischer Schalter verwendet, der erst beim Unterbrechen des frequenten Reizes (durch Anheben der Morsetaste) in Tätigkeit trat

Abb. 1. (Erklärung im Text)

und in einem zeitlichen Abstand, der zwischen 0,12 und 2,1 sec variiert werden konnte, noch einen Einzelreiz gleicher Größe und Dauer erzeugte (Abb. 1).

Die Potentiale wurden mit einem Wechselspannungsverstärker (f_u~5 Hz; f_o~10 kHz) verstärkt, auf einen Oscillografen gegeben und mit einer Rolleiflex fotografiert. Der minimale Bildabstand betrug etwa 5 sec; deshalb mußten oft mehrere Potentiale übereinander abgebildet werden, deren zeitliche Aufeinanderfolge sich nicht mehr rekonstruieren ließ. Daher stehen über einer Zeitkoordinate oftmals mehrere Meßpunkte. Filmmaterial: Agfa-Bromsilber-Registrierpapier.

Die fotografierten Potentiale wurden durch episkopische Projektion 4—5fach vergrößert, nachgezeichnet und ausplanimetriert (Polarplanimeter).

C. Befunde

1. Elektronenmikroskopie

Axone von mehr als 1 μ Durchmesser pflegen allseitig von Gliazellen umhüllt zu werden, dünne Fasern dagegen unmittelbar nebeneinander herzulaufen. Gelegentlich können jedoch auch dickere Fasern Membran an Membran nebeneinander liegen (Abb. 2) oder dünne Fasern sich tief in Längsfurchen dickerer Axone einschmiegen (Abb. 4, 6a). Dann findet man gewöhnlich in einer der beiden Fasern zahlreiche neurosekretartige Grana (Abb. 2, 4, 6a), während wenigstens einige der benachbarten Axone keine solchen Grana enthalten. Sehr viel seltener trifft man auf Ansammlungen von kleinen, membranumgrenzten Bläschen, die sich in Größe und Form mit den klassischen „synaptic vesicles" aus Synapsen höherer Tiere vergleichen lassen (Abb. 2, *s.v.*; Abb. 5b, *s.v.*). An anderen Orten gibt es Elementargrana, deren Grenzmembran mit der Zellgrenze des Axons in kontinuierlicher Verbindung steht (Abb. 6b).

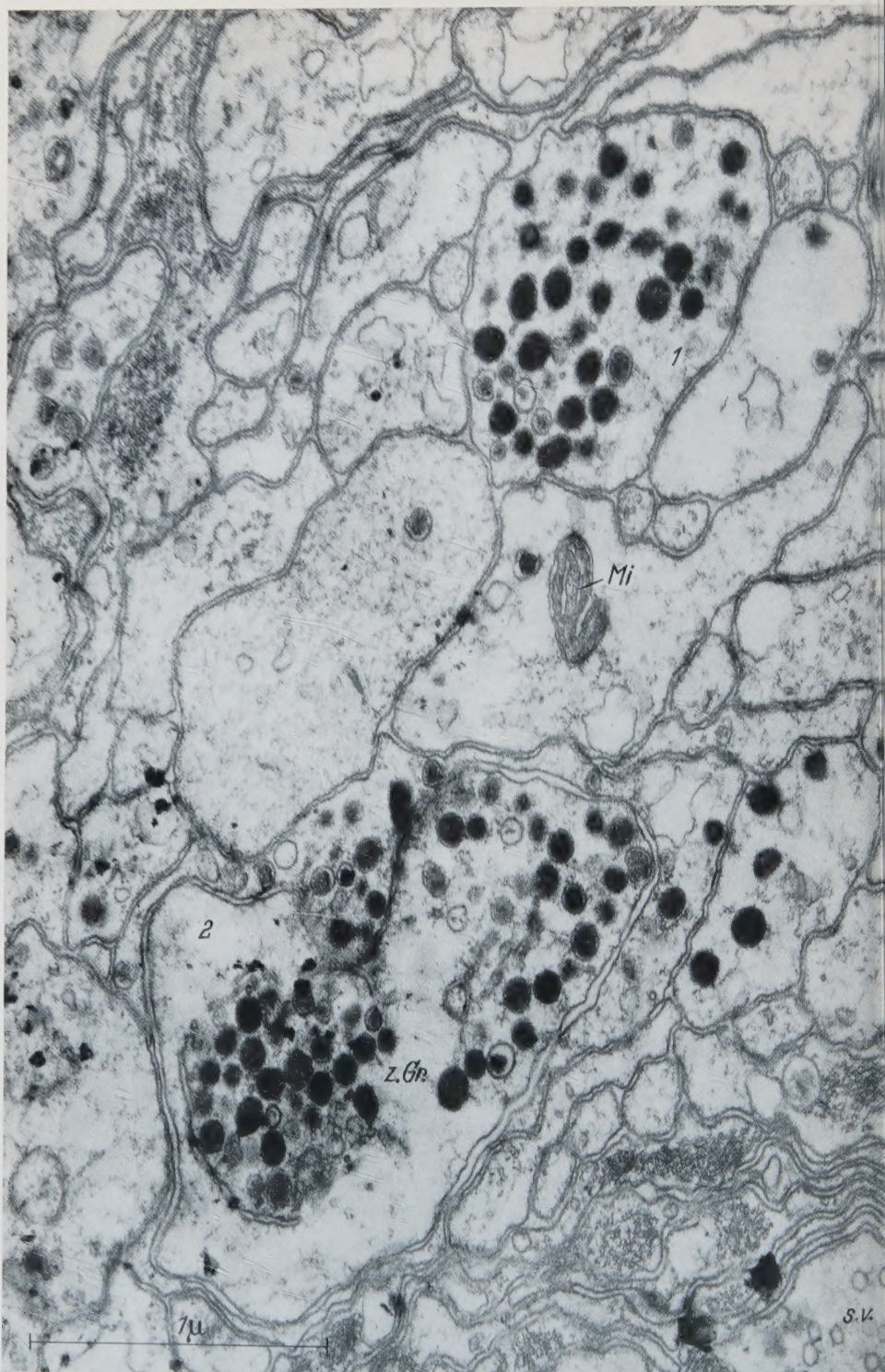


Abb. 2. *Helix pomatia*, Nervus intestinalis quer, OsO_4. Dünne und dicke Axone berühren einander direkt. In eini Neuriten (bes. Faser *1* und *2*) sind neurosekretartige Grana unterschiedlicher Dichte angehäuft; einige der bena barten Axone enthalten keine solchen Grana. (*s. v.*) Membranumgrenzte Bläschen, die den klassischen „synaptic vesicles" ähnlich sehen. (*z. Gr.*) Zusammengesetztes Granum

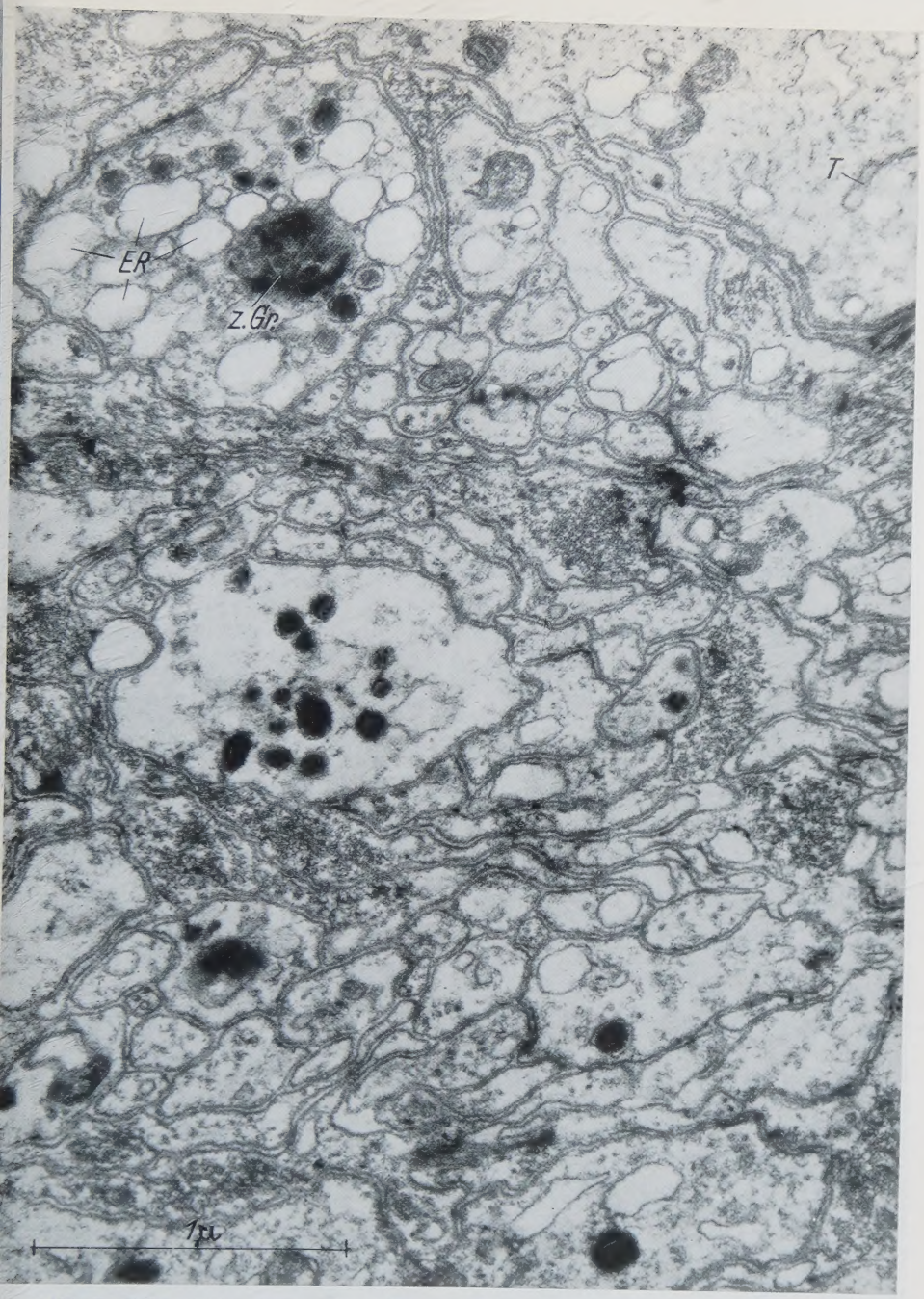


Abb. 3. *Helix pomatia*, Nervus intestinalis, quer, OsO_4. Einige der größeren Axone enthalten neurosekretartige Grana. Sie grenzen direkt an andere, granafreie Axone. In dem zusammengesetzten Granum (*z. Gr.*) sind noch die Konturen der Einzelgrana erkennbar. Der Komplex ist offenbar nicht von einer Membran umgeben. (*ER*) Endoplasmatisches Reticulum, (*T*) Tubuläre Abfaltung der Zellgrenzmembran

Man ist versucht, alle derartigen Bildungen für Synapsen zu halten, wobei es sich im letztgenannten Fall (Abb. 6b) um Schüttung von Transmitter handeln könnte. Dann würde aber die Struktur dieser Synapsen

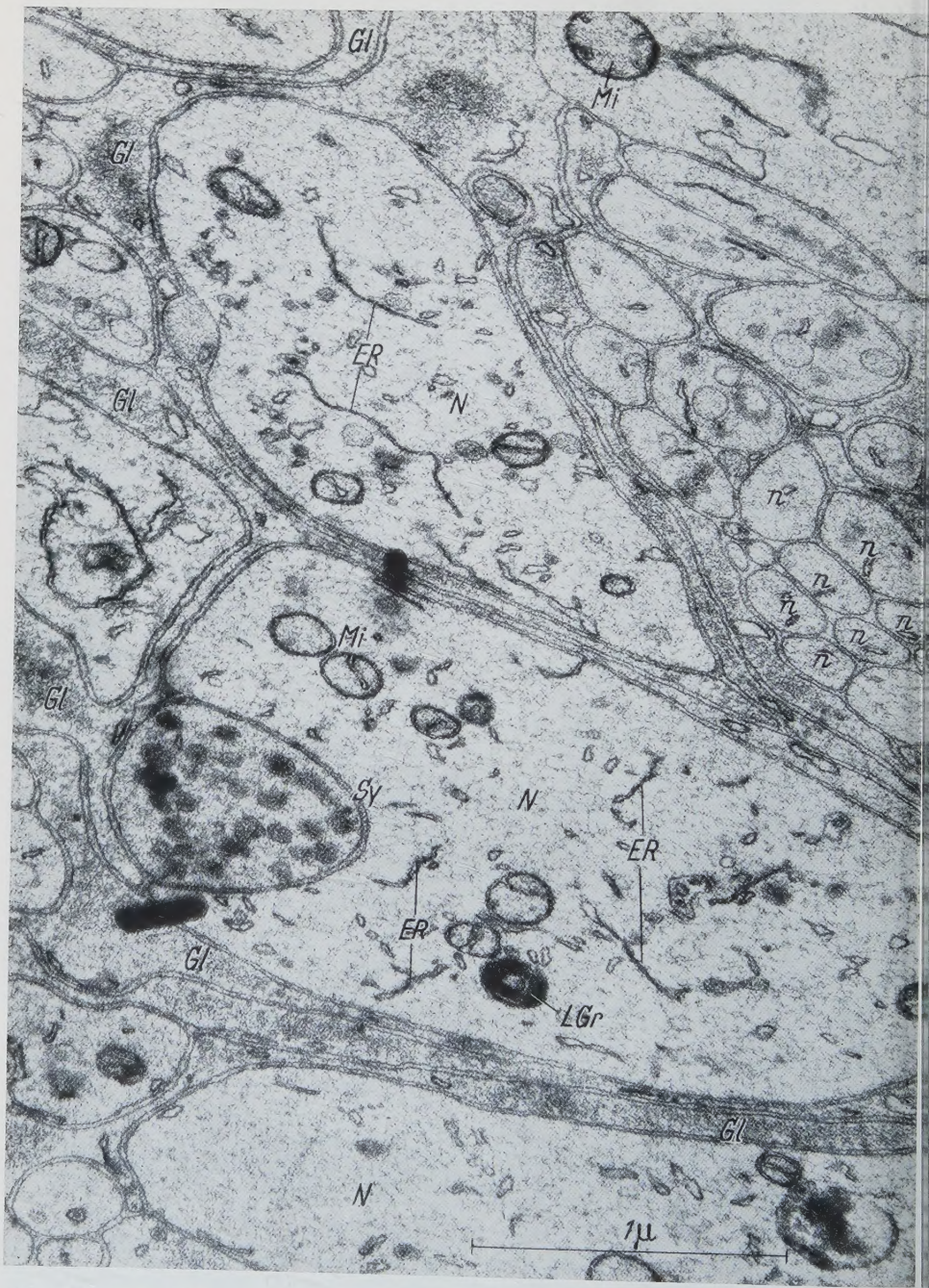
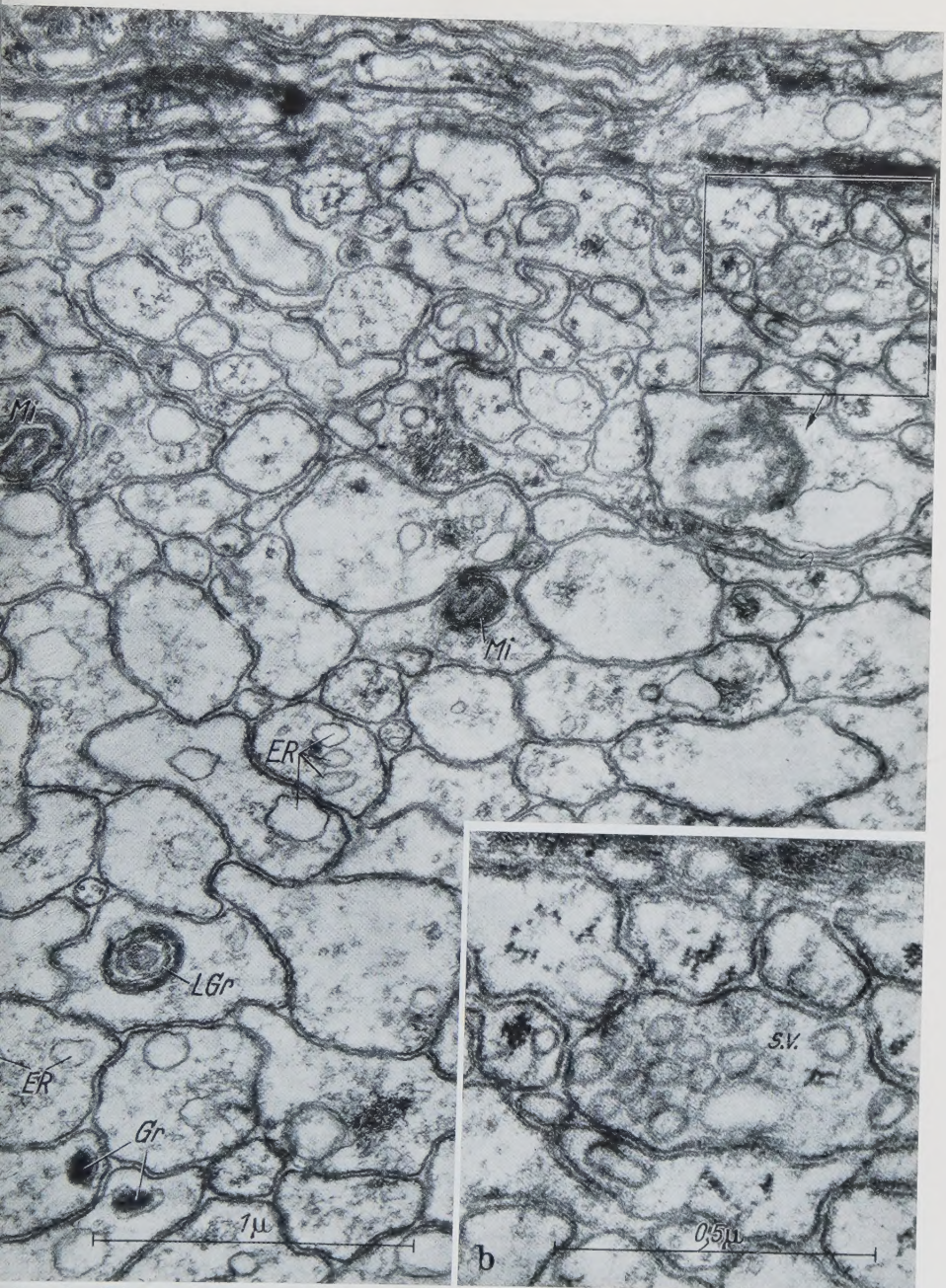


Abb. 4. *Helix pomatia*, Nervus intestinalis quer, $KMnO_4$. Größere Axone (*N*) mit Endoplasmatischem Reticulum (*ER*) und Mitochondrien (*Mi*) sind gewöhnlich voneinander durch Gliazellen (*Gl*) getrennt. Kleinere Neurone (*n*) berühren sich direkt. In der linken Bildhälfte eine Synapse (*Sy*) zwischen einem der größeren Axone und einer in dieses hineinragenden Faser. Präsynaptisch sind neurosekretartige Grana angehäuft, die hier weniger elektronendicht erscheinen als nach OsO_4-Fixation



. 5a u. b. *Helix pomatia*, Nervus intestinalis quer, OsO_4. Viele kleinere Neurone berühren einander direkt. Neurocytoplasma Endoplasmatisches Reticulum (*ER*), Mitochondrien (*Mi*) und einige neurosekretartige Grana In einem der Axone 550—650 AE große membranumgrenzte Bläschen (*s. v.*, s. vergrößerter Ausschnitt: b)

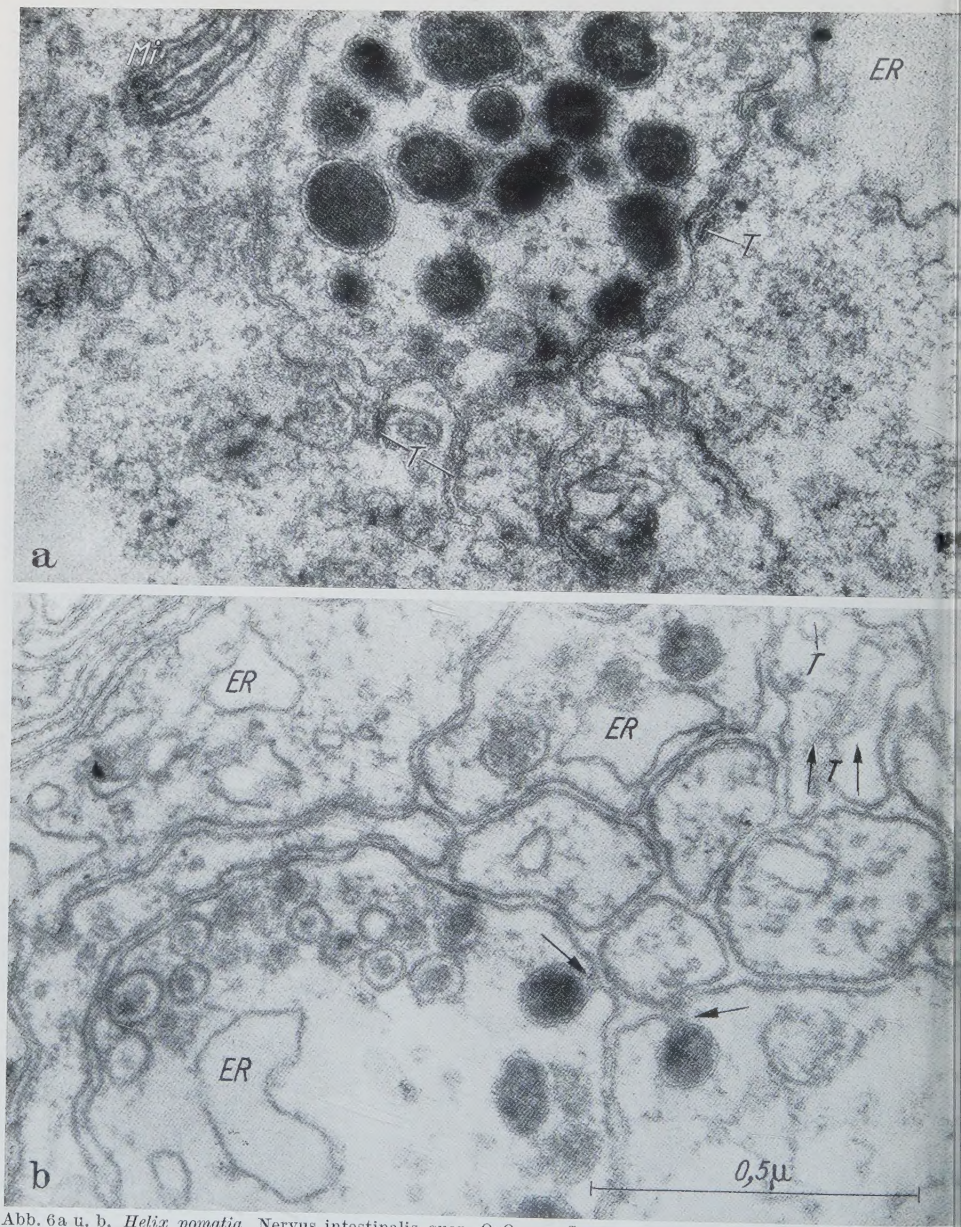


Abb. 6a u. b. *Helix pomatia*, Nervus intestinalis quer, OsO_4. a Synapse zwischen zwei Axonen des Nervus intestinalis. Präsynaptisch eine Ansammlung neurosekretartiger Grana, die hier offenbar die Funktion der synaptischen Grana haben. (*ER*) Endoplasmatisches Reticulum, (*Mi*) Mitochondrien, (*T*) Tubuläre Abfaltung in das Neurocytoplasma. b Synaptische Verbindung zwischen benachbarten großen und kleinen Neuriten. Unten im Bild die präsynaptischen Regionen mit neurosekretartigen Grana, die wahrscheinlich die Transmittersubstanz enthalten. Die Hüllmembran dieser Grana kann mit der Zellgrenzmembran verschmelzen (*Pfeile*). (*T*, mit *Pfeilen*) Tubuläre Einfaltung der Zellgrenzmembran in das Neurocytoplasma. (*ER*) Endoplasmatisches Reticulum

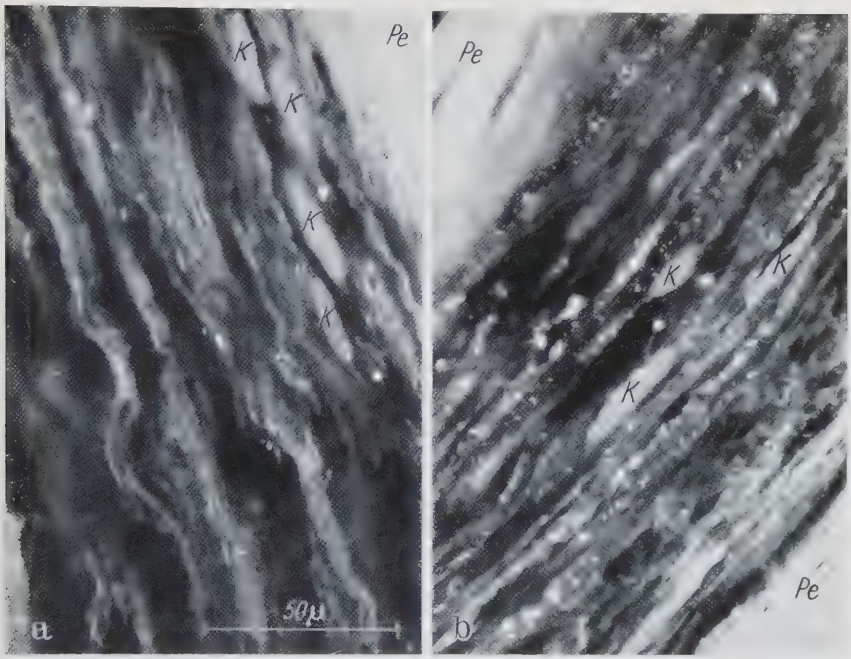


Abb. 7a u. b. *Helix pomatia*, Nervus intestinalis längs, Fluoreszenzbild nach Färbung mit Diäthylpseudoisocyaninchlorid. Nerv (a) (obere Bildhälfte) ist kurze Zeit später fixiert als Nerv (b). Von beiden Objekten ist anatomisch etwa die gleiche Stelle abgebildet. In Axonen von Nerv (b) viele kleinere und größere Grana, z.T. gehäuft, z.T. in Ketten aufgereiht. Sie leuchten im Fluoreszenzmikroskop gelb auf. In Nerv (a) sind fast keine solchen Grana sichtbar. Perineurium (*Pe*) und Zellkerne (*K*) zeigen ebenfalls Sekundärfluoreszenz

beträchtlich von dem abweichen, was man von Arthropoden- oder Vertebratensynapsen her kennt. Denn weder die übrigen Abschnitte der beteiligten Fasern, noch die Grenzschichten der benachbarten Axone besitzen die für prä- bzw. postsynaptische Membranen charakteristischen Verdickungen. Außerdem müßte man die „synaptic vesicles" der Vertebraten und Arthropoden hier gleichsetzen mit den neurosekretartigen Grana.

Dort, wo zahlreiche nach OsO_4-Fixation dunkle Elementargrana in einem Axon dicht beieinander liegen, findet man manchmal Komplexe (Abb. 3, *z.Gr.*), die aussehen wie eines der früher beschriebenen zusammengesetzten Grana (Schlote und Hanneforth 1963). Die Grundsubstanz zwischen den Grana eines Komplexes ist dunkler als das umgebende Cytoplasma.

2. Nachweis neurosekretartiger Substanzen

In neuerer Zeit wurde mit Diaethylpseudoisocyaninchlorid ein Reagenz zum Nachweis neurosekretartiger Substanzen eingeführt (Sterba 1961), das spezifischer

und empfindlicher sein soll als die bisherigen Färbemethoden mit Chromhämatoxylin (Bargmann 1949) oder Paraldehydfuchsin (Gabe 1953a, b). Diaethylpseudoisocyaninchlorid polymerisiert an Substanzen, die mit einem Abstand von 4—5 AE mehrere stark saure Gruppen enthalten (Sterba und Wellner 1963). Diese Gruppen müssen jedoch vor der Färbung durch saure Oxydation erst erzeugt werden. Nur der polymere Farbstoff fluoresziert gelb im ultravioletten Licht. Ursprünglich am neurosekretorischen System von Wirbeltieren entwickelt (Sterba 1961, 1963), soll sich die Methode auch an Wirbellosen, besonders Insekten, bewährt haben (Sterba und Wellner 1963).

Der Nervus intestinalis von *Helix pomatia* gibt ebenfalls positive Resultate (Abb. 7b). In seinen Axonen fluoreszieren kleinere und größere Grana. Zum Teil sind sie in Ketten aufgereiht, stellenweise treten sie gehäuft auf. Es ist wahrscheinlich, daß diese fluoreszierenden Grana identisch sind mit den neurosekretartigen Elementargrana (Abb. 2, 4, 6) oder den zusammengesetzten Grana (Abb. 3, *z. Gr.*). Aber auch das Perineurium zeigt eine starke Sekundärfluoreszenz, die Zellkerne dagegen leuchten weniger intensiv (Abb. 7).

Der Gehalt des Nerven an fluoreszierenden Grana ist anscheinend von Tier zu Tier verschieden. So sind in Abb. 7a und b zwei anatomisch gleiche Stellen von Nerven verschiedener Schnecken abgebildet. Beide Zonen sind etwa 10—13 mm vom Visceralganglion entfernt. Beide Tiere wurden praktisch gleichzeitig fixiert (Zeitdifferenz etwa 30 min). Beide hatten zuvor an einer Mauer im Schneckenturm des Institutsgartens gesessen. Der eine Nerv (Abb. 7a) enthält kaum fluoreszierende Grana. Die Axone des anderen Nerven (Abb. 7b) sind mit leuchtenden Körnchen gleichsam übersät.

3. Elektrophysiologie

a) Allgemeines. Der Nervus intestinalis enthält 6000—8000 Fasern verschiedener Größe. Die stärksten haben einen Durchmesser von 6 bis 8 μ, die dünnsten messen kaum 0,1 μ. Bei extrazellulärer Ableitung am intakten Nerven addieren sich ihre Aktionspotentiale zu einem Summenpotential, dessen Fläche somit ein Maß für die Anzahl der erregten Fasern darstellt (Erlanger und Gasser 1937). Aus einem Summenpotential läßt sich jedoch wenig über die Reizantwort einzelner Elemente entnehmen, zumal dicke Fasern mit ihrem relativ geringen Innenwiderstand mehr zum Gesamtpotential beitragen als dünne Fasern.

Bei reizortnaher Ableitung kann das Summenpotential zu einem großen, eingipfeligen Potential verschmelzen. In 4—6 mm Abstand vom Reizort besitzt es mehrere Maxima. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, die Leitungsgeschwindigkeit einiger Fasergruppen zu bestimmen (Erlanger und Gasser 1937, für den *Helix*-Nerven vgl. Schlote 1955).

Da der Nervus intestinalis neben durchgehenden Elementen wahrscheinlich eine Anzahl von Synapsen enthält (Schlote 1955), worauf

auch die elektronenmikroskopischen Befunde hindeuten (S. 487—493), dürfen Form und Fläche des Summenpotentials nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden. Denn es ist unmöglich, in aufeinanderfolgenden Präparationen Reiz- und Ableitelektroden genau über denselben anatomischen Ort zu bringen. Ja, es ist noch nicht einmal sicher, ob zwei aufeinanderfolgende Reize zu demselben Resultat führen werden. Denn wenn der Nervus intestinalis tatsächlich einen Plexus darstellt, dann könnte jede Reizantwort in ihrer Art durch vorangegangene Erregungen mitbestimmt werden. Es sieht allerdings so aus, als ob sich bei Reizabständen von einer Minute und mehr aufeinanderfolgende Summenpotentiale zur Deckung bringen lassen (KRIJGSMAN 1941, SCHLOTE 1955).

Unter diesen Umständen ist es am günstigsten, unter möglichst konstanten Außenbedingungen zu arbeiten und zu untersuchen, wie der Nerv Impulsfolgen verschiedener Frequenz und Dauer beantwortet. Auch muß geprüft werden, in welcher Hinsicht sich sein Reaktionsvermögen nach Erregungsdurchtritt verändert.

b) Die Fläche des Summenpotentials bei Reizung mit 8 und 12 sec. Reizt man mit einer anhaltenden Serie von Rechteckimpulsen von 1 msec Dauer, die mit 80 oder 125 msec Abstand aufeinanderfolgen (Frequenz 12/sec bzw. 8/sec), so wird in manchen Fällen schon der zweite Reiz mit einem vergrößerten Summenpotential beantwortet (Abb. 8, 10). Dieses Anwachsen der Potentialfläche setzt sich für einige Zeit fort. Es wird gefolgt von einem mehr oder weniger starken Absinken. In anderen Fällen unterbleibt das Flächenwachstum. Das Summenpotential wird vielmehr sofort oder auch erst nach einer gewissen Zeit kleiner (Abb. 9). Es kann bis auf 20% des Ausgangswertes abnehmen. Diese Erscheinung soll hier mit *Ermüdung* bezeichnet werden. Nach genügend langem Dauerreiz stellt sich manchmal (Abb. 9, 10, Versuch 26, untere Kurve; Abb. 11, untere Kurve) aber nicht immer (Abb. 8, alle drei Versuche) ein Endwert in der Potentialfläche ein. Selbst nach einer solchen Belastung kann also ein Teil der Elemente aktiv bleiben. Im einzelnen ergibt sich folgendes:

Wird mit 12 sec gereizt, so vergrößert sich die Potentialfläche mancher Nerven innerhalb einer Sekunde um 20—30%. Während der folgenden Minute fällt sie bis auf einen Bruchteil des Ausgangswertes ab (Abb. 8, Versuch 17 und 19), ohne daß ein Endwert erreicht wird.

Andere Nerven, in gleicher Weise präpariert und gereizt, antworten sofort mit einem mehr oder weniger starken Abfall der Potentialfläche. Hier stellt sich nach 10—15 sec (Abb. 9, 10, Versuch 26) oder aber erst nach 100 sec (Abb. 11, untere Kurve) ein neues Niveau der Potentialfläche ein.

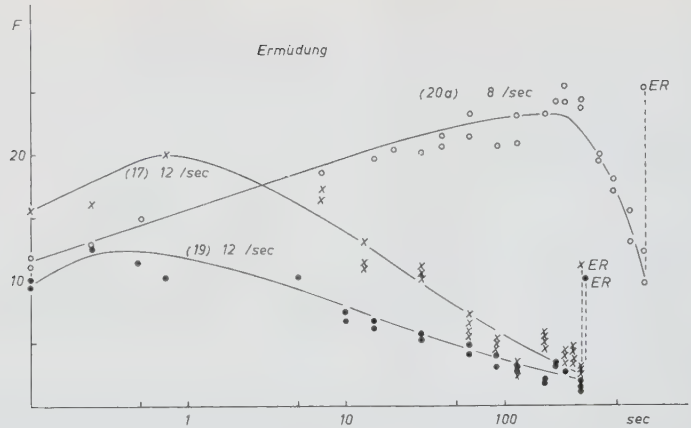


Abb. 8. Die Fläche (F) des Summenpotentials bei Dauerreiz (8 und 12/sec). Zu Beginn einer Reizserie wächst die Fläche des Summenpotentials. Die Flächenzunahme ist meist nach weniger als 1 sec (Versuch 17 und 19), selten erst nach über 100 sec beendet (Versuch 20a). Die sich anschließende Flächenabnahme ist ein Ausdruck von Ermüdung. Auch nach mehreren Minuten Dauerreiz sind die Nerven nicht vollständig ermüdet. Auf einem Foto des Oszillografenschirmes sind mehrere Potentiale übereinander abgebildet, deren zeitliche Aufeinanderfolge sich nicht mehr rekonstruieren läßt. Über einer Zeitkoordinate stehen daher mehrere Meßwerte. (ER) Einzelreiz nach Dauerreizende

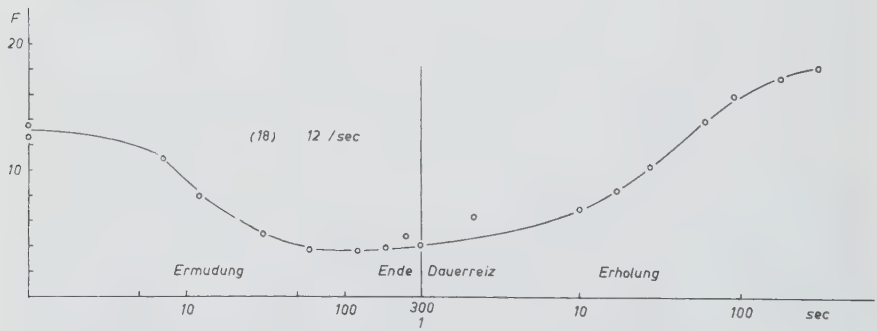


Abb. 9. Ermüdung und Erholung des Summenpotentials. Die Potentialfläche (F) sinkt ohne vorhergehendes Wachstum und innerhalb von etwa 50 sec auf einen Betrag, der für weitere 60 sec des Dauerreizes konstant bleibt. Erst rund 2 min nach Ende der frequenten Reizserie hat die Potentialfläche wieder die Ausgangsgröße. Beachte: Neuer Beginn der logarithmischen Zeitskala (in sec) nach Dauerreizende

Reizt man mit 8/sec, so wächst die Potentialfläche bei einer Reihe von Nerven um 30—100% (Abb. 8, Versuch 20a; Abb. 10, Versuch 27; Abb. 13, Versuch 31; Abb. 14, beide Nerven). Das Maximum wird meist später erreicht, nämlich 5 sec (Abb. 13, Versuch 31), 10 sec (Abb. 14), 15 sec (Abb. 10, Versuch 27) oder erst 400 sec (Abb. 8, Versuch 20a) nach Beginn des schnellen Dauerreizes. Im Anschluß an dieses Maximum fällt die Potentialfläche in allen Beispielen ohne Wendepunkt ab. Es gibt aber auch Nerven, welche die schnelle Reizfolge nicht mit einem

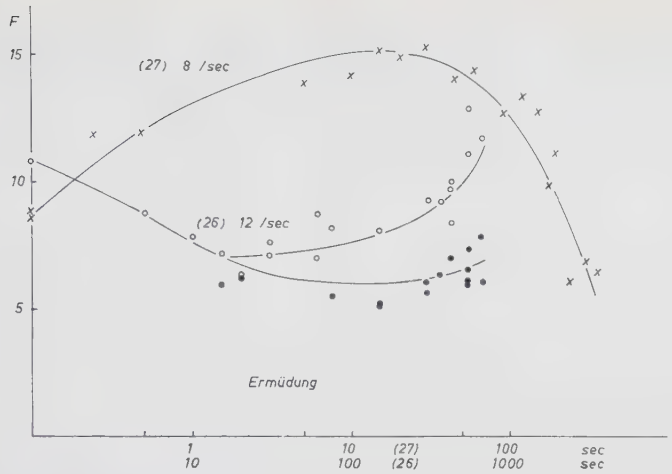


Abb. 10. Die Fläche (F) des Summenpotentials bei den Reizfrequenzen 8 und 12/sec. In Versuch 27 erreicht die Potentialfläche in rund 12 sec ein Maximum; der Nerv ist nach 5 min Dauerreiz noch nicht voll ermüdet. Offene und geschlossene Kreise sind Meßpunkte von Versuch 26. Die Potentialfläche nimmt ab ohne vorhergehendes Wachstum. Sie kann von Impuls zu Impuls stark fluktuieren: Einige sporadisch auftretende Potentiale sind viel größer (offene Kreise, obere Kurve) als dem erreichten Ermüdungszustand entspricht (geschlossene Kreise, untere Kurve)

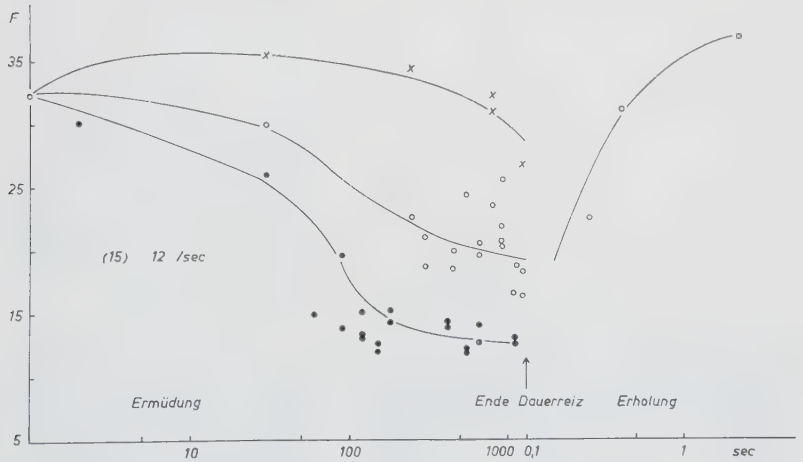


Abb. 11. Ermüdung und Erholung des Summenpotentials. Während einer frequenten Reizserie nimmt die Fläche des Summenpotentials (F) nicht kontinuierlich ab. Von Impuls zu Impuls kann die Potentialfläche erheblich fluktuieren. Übereinander abgebildete verschieden große Potentiale eines Nerven (vgl. mit Abb. 12) sind mit verschiedenen Zeichen eingetragen und diese getrennt miteinander verbunden. Einige Fasergruppen antworten auf jeden Reiz (untere Kurve), einige auf jeden 3. oder 4. Reiz (mittlere Kurve), andere noch seltener (obere Kurve). Die Potentialfläche ist etwa 2 sec nach Dauerreizende wieder maximal. Beachte: Neuer Beginn der logarithmischen Zeitskala nach Dauerreizende

Anstieg der Potentialfläche beantworten (Abb. 13, Versuch 33). Sie beginnen etwa 20 sec nach Einsetzen des Dauerreizes mit Ermüdung.

Die Ermüdung schreitet auch nicht unter allen Umständen kontinuierlich fort in dem Sinn, daß jeder Folgereiz mit einer kleineren Erregung beantwortet wird. Es gibt vielmehr Nerven, bei denen zwar die Potentialfläche über längere Zeiträume hin absinkt, wo unmittelbar aufeinanderfolgende Potentiale jedoch sehr verschieden groß sein können (Abb. 12, von 30 sec nach Reizbeginn an). Trägt man die Fläche aller an einem solchen Nerven registrierten Potentiale in ein Diagramm ein, so erscheinen über demselben Abszissenpunkt mehrere Meßwerte (Abb. 11). Man kann die Meßpunkte drei verschiedenen Gruppen zuordnen und durch Kurven verbinden. Ein Teil der Fasern antwortet also offenbar auf jeden Reiz (untere Kurve), ein anderer Teil seltener — die Potentialfläche hat auf jeden zweiten bis dritten Reiz eine mittlere Größe —, eine dritte Gruppe wird nur gelegentlich erregt (obere Kurve). Jede Gruppe ist für sich ermüdbar; man erkennt das am Absinken der Potentialfläche nach längerem Dauerreiz.

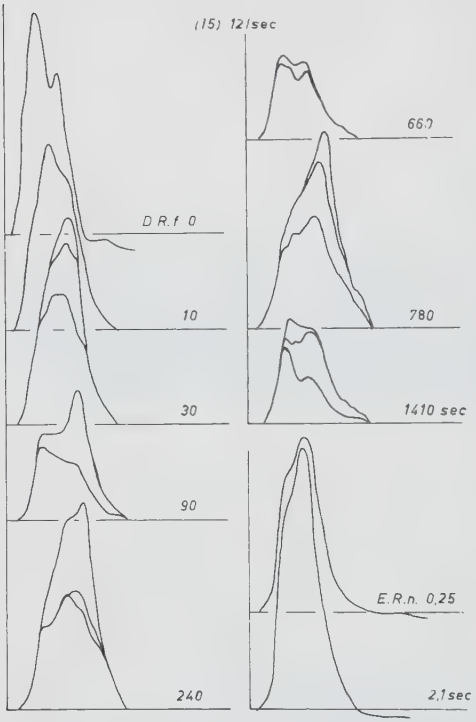


Abb. 12. Das Summenpotential während und nach Dauerreiz. Auf einem Foto des Oscillografenschirmes sind mehrere aufeinanderfolgende Summenpotentiale übereinander abgebildet. Ihre Größe schwankt sehr stark von Impuls zu Impuls. Es gibt offenbar Fasergruppen, die auf jeden Reiz antworten, andere werden seltener aktiviert (vgl. mit Abb. 11). Die Erholung, gemessen an der Potentialfläche, ist nach etwa 2 sec beendet. Die Form des Potentials wird nicht wieder hergestellt, der Hauptgipfel kommt später als zu Versuchsbeginn

Verfährt man ähnlich in einem anderen Versuch (Abb. 10, Versuch 26), so treten nicht vor 20 sec nach Reizbeginn die ersten vergrößerten Potentiale auf. Ihre Fläche nimmt bis zum Versuchsende, 10 min nach Reizbeginn, ständig zu und erreicht, ja übersteigt den Anfangswert. Eine Kurve, die alle kleinen bzw. alle großen Potentialwerte miteinander verbindet, teilt sich daher bald in einen flach verlaufenden und in einen stark ansteigenden Ast.

In anderen Versuchen beantworten manche Fasergruppen, wie man am Oscillographenschirm verfolgen kann, nur jeden zweiten oder dritten

Reiz: Das Summenpotential ist in regelmäßigem Wechsel klein oder groß. Dieser Rhythmus bleibt oftmals über längere Zeit konstant; er ließ sich bis über eine Minute verfolgen. Er wird durchbrochen, sobald man die Reizfrequenz vergrößert.

c) Die Fläche des Summenpotentials bei Reizung mit 1/Min. Um zu prüfen, ob das eigenartige Verhalten des Nerven — die Fläche des

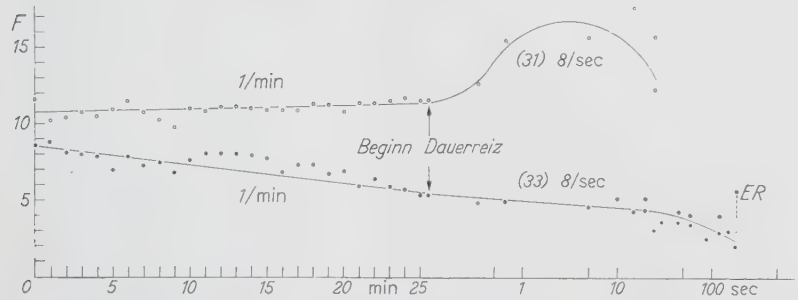


Abb. 13. Die Fläche des Summenpotentials (F) bei den Reizfrequenzen 1/min und 8/sec. Die Potentialfläche bleibt etwa konstant (Versuch 31) oder fällt leicht ab (Versuch 33), wenn mit 1/min gereizt wird. In Versuch 31 zu Beginn einer anschließenden frequenten Reizserie (8/sec) Flächenwachstum, dann Abnahme (Ermüdung) der Potentialfläche. Die Phase der Flächenzunahme fehlt in Versuch 33 bei beginnendem Dauerreiz. 10 sec nach Dauerreizende hat die Fläche aber wieder zugenommen. Beachte: Lineare, dann logarithmische Zeitskala

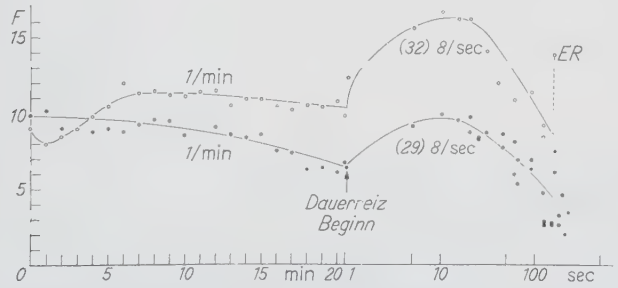


Abb. 14. Die Fläche des Summenpotentials (F) bei den Reizfrequenzen 1/min und 8/sec. Die Fläche des Potentials fällt leicht ab (Versuch 29) oder weist unregelmäßige Schwankungen auf (Versuch 32), wenn einmal in der Minute gereizt wird. Zu Beginn eines Dauerreizes (8/sec) steigt die Potentialfläche an in den ersten 10 sec und nimmt dann ab (Ermüdung). Beachte: Lineare, dann logarithmische Zeitskala

Summenpotentials einige Zeit nach Reizbeginn zu verändern — von noch unbekannten inneren Bedingungen herrührt oder präparationsbedingt ist, wurden mehrere Nerven über 20—27 min mit einer Frequenz von 1 min gereizt. Natürlich mußte auch jetzt die maximale Reizspannung durch 3—4 Testreize zuvor ermittelt werden.

Nun bleibt die Fläche des Summenpotentials nahezu konstant (Abb. 13, Versuch 31), zeigt einen leichten Abfall (Abb. 13, Versuch 33

und Abb. 14, Versuch 29) oder geringfügige Schwankungen (Abb. 14, Versuch 32), die aber nicht mit Anstieg und Abfall der Potentialfläche bei schnellem Dauerreiz vergleichbar sind. Es ist somit die schnelle Reizfolge, welche die starken Veränderungen in der Potentialfläche bewirkt. Das wird besonders deutlich, wenn sich ein Dauerreiz von 8/sec an eine lange Serie von Einzelreizen gleicher Höhe (1/min) anschließt. Hier wiederholen sich dieselben Erscheinungen, die bereits weiter oben beschrieben wurden: Die Potentialfläche nimmt in den ersten 10 sec zu. Danach fällt sie rasch ab auf Werte, die kleiner sind als das erste Potential des ganzen Versuches (Abb. 14, Versuch 29).

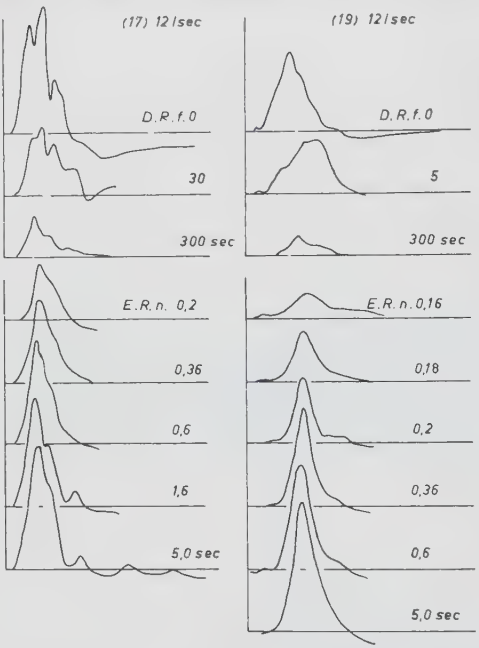


Abb. 15. Das Summenpotential während Ermüdung und Erholung. Die Größe des Potentials ist nach 300 sec auf etwa 20—30 % des Ausgangswertes abgesunken (Ermüdung). Die Gipfel (Versuch 19) erscheinen verzögert und sind z. T. verschwunden (Versuch 17). Während der Erholung nimmt die Potentialfläche zu, doch erscheint die Potentialform vereinfacht gegenüber dem jeweils ersten Summenpotential der Serie. Auch innerhalb 5 sec der Erholung (E. R. n. 5,0 sec) wird die ursprüngliche Form nicht wieder ausgebildet

Dieses Verhalten, noch 20 min nach der Präparation beweist, daß der Nerv während der ganzen Zeit seine volle Funktionsfähigkeit behalten hat.

In anderen Fällen jedoch (Abb. 13, Versuch 33) unterbleibt das Anwachsen der Potentialfläche, wenn von langsamer auf schnelle Reizfolge umgeschaltet wird (Pfeil „Dauerreiz"); die Potentialfläche nimmt vielmehr ständig weiter ab. Läßt man aber 5 sec nach Ende der schnellen Reizserie einen Einzelreiz folgen, so wird er mit einer Potentialfläche beantwortet, die jener zu Beginn des Dauerreizes gleicht. Mithin wurde der Nerv durch den Dauerreiz ermüdet, jedoch offenbar nicht geschädigt.

d) Die Erholungsphase nach Beendigung des Dauerreizes. Mit fortschreitender Ermüdung sinkt die Fläche des Summenpotentials auf $^1/_3$ bis auf $^1/_5$ des Anfangswertes ab (Abb. 8, 9). Einige Zeit nach Abschalten des Reizes hat sich ein solcher Nerv wieder so weit erholt, daß das Potential seine anfängliche Fläche zurückgewinnen

konnte. Man kann fragen, ob auch die Potentialform in allen Stücken wiederhergestellt wird, wann die regenerativen Prozesse ablaufen und wie lange es dauert, bis die ursprüngliche Leistungsfähigkeit erreicht ist.

Man kann zunächst versuchen, in immer kürzeren Abständen vom Ende des Dauerreizes (1 min bis 10 sec) durch einen Testreiz derselben Größe feststellen, wann der Nerv seine Funktionsfähigkeit, gemessen als Fläche des Summenpotentials, wiedergewonnen hat (Abb. 8, *ER*; Abb. 9, 11, Erholung; Abb. 13, 14, *ER*). Es zeigt sich, daß dies 10 sec, manchmal (Abb. 9) auch erst 100 sec nach Reizende der Fall ist. Nicht selten steigt aber danach das Summenpotential auf noch höhere Werte an (Abb. 8, 14).

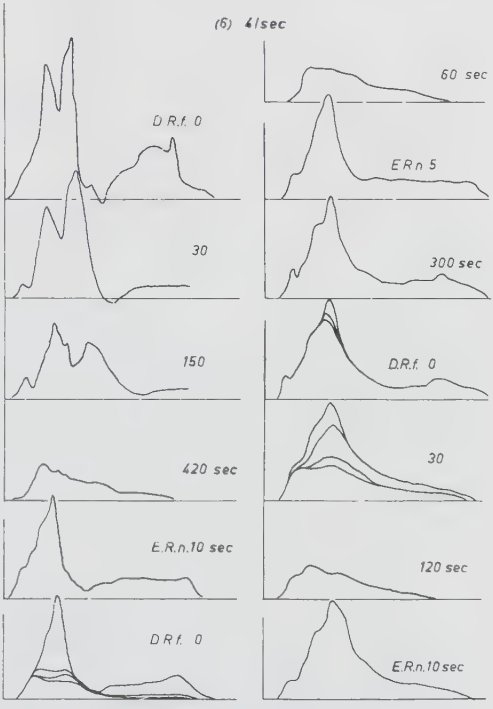


Abb. 16. Das Summenpotential bei mehreren aufeinanderfolgenden Reizserien. Weitere Erklärungen im Text

Darüber hinaus kommt es aber zu langanhaltenden Veränderungen. Denn wenn einige Zeit nach Ende des frequenten Dauerreizes auch dieselbe Größe der Potentialfläche gemessen wird wie zu Beginn des Versuches oder der frequenten Reizung, so ist doch die Form des Potentials stark abgewandelt (Abb. 12, 15, 16). Es wirkt nun, wie im Extrem in Abb. 15 (Versuch 19, unten) einheitlicher; es ist ärmer an Einzelgipfeln geworden. Auch kommt das Hauptmaximum des letzten Potentials einer solchen Versuchsserie meist später als das Hauptmaximum des ersten Potentials (Abb. 12, 15). Ein Teil der schnell leitenden Elemente ist anscheinend langsamer geworden.

Noch aus anderen Gründen ist die Erholung nicht als vollkommen anzusehen. Wäre sie es, dann müßte ein erneuter Dauerreiz in jeder Hinsicht zu demselben Ergebnis führen wie der erste; ein erholter Nerv müßte wiederum erst nach einigen Minuten ermüdet sein. Das ist nicht so. Reizt man zunächst mit 4/sec über 420 sec (Abb. 16, links oben), so sinkt die Potentialfläche auf einen Bruchteil ab. Ein Testreiz 10 sec nach Ende

der Reizserie führt zu einem teilweise erholten Potential. Reizt man nun, beginnend 10 sec nach dem Testreiz, erneut mit 4/sec, so ist die Potentialfläche bereits nach zwei Impulsen auf jenen Wert abgesunken, der vorher erst nach 420 sec erreicht wurde. Die Erholungszeit betrug in diesem Fall 10+10=20 sec. Nach dem Ende der zweiten Reizserie, also nach weiteren 60 sec (Abb. 16, rechts oben), folgt eine Erholungszeit von 5 min Dauer. Zu Beginn und am Ende der Erholungsphase wurde je ein Summenpotential aufgenommen (E. R. n. 5 sec und 300 sec). Beide Potentiale unterscheiden sich kaum voneinander. Gemessen an der Potentialfläche hat sich der Nerv in 300 sec kaum mehr erholt als vorher in 10 sec (E. R. n. 10 sec, unten links). Der langen Ruhezeit von 300 sec schließt sich nun ein dritter Dauerreiz an. Jetzt erreicht der Nerv erst nach 30—60 sec den Ermüdungszustand (vgl. bei 420 sec, linke Spalte). Streng genommen ist also die Regeneration der Potentialfläche nur Zeichen einer scheinbaren Erholung. Ein zweiter Dauerreiz ermüdet den Nerven schneller.

Es gibt sogar Nerven, die sich innerhalb von 4—5 min soweit erholt haben, daß zu Beginn einer neuen Reizserie wieder ein Flächenanstieg zu verzeichnen ist. Dieser klingt aber eher ab und leitet schneller zu der nachfolgenden Ermüdungsphase über.

Um den genauen Verlauf der Regeneration des Summenpotentials in unmittelbarem Anschluß an den Dauerreiz verfolgen zu können, mußte der zeitliche Abstand zum nachfolgenden Testreiz verringert werden. Das gelang mit Hilfe einiger elektronischer Schalter. Nun kann 0,12 bis 2,1 sec nach Beendigung des Dauerreizes ein Einzelreiz gegeben, das durch ihn hervorgerufene Summenpotential registriert und wie vorher ausgemessen werden. Um aber zu einer vollständigen Erholungskurve zu gelangen, muß ein solcher Nerv durch einen sofort anschließenden Dauerreiz eine Minute lang erneut ermüdet, dann in einem anderen zeitlichen Abstand durch einen weiteren Einzelreiz getestet werden und so fort. Dabei sollte der Abstand der Testreize vom vorhergehenden Dauerreiz keiner Regel gehorchen. Er ist vielmehr willkürlich zu wählen, z. B. 0,18—2,1—0,6—0,9—0,16 sec usw. Eine gleichmäßig zu- oder abnehmende Folge könnte zu einem systematischen Fehler führen, da schon für den zweiten Testreiz der vorangegangene Dauerreiz um eine Minute verlängert war.

Die Erholungskurven, welche man aus solchen Versuchen gewinnt, haben häufig eine hyperbolische Form (Abb. 17, Versuch 17, 19, 22): Mit zunehmendem Abstand vom Ende der Reizserie wächst die Fläche des „Erholungs"-Potentials zunächst schnell, dann langsamer an. 2—10 sec genügen, um die Potentialfläche voll zu regenerieren.

Ein Teil der Nerven arbeitet wie besprochen. In anderen Fällen werden 3—5 min benötigt, um die ursprüngliche Potentialfläche wieder-

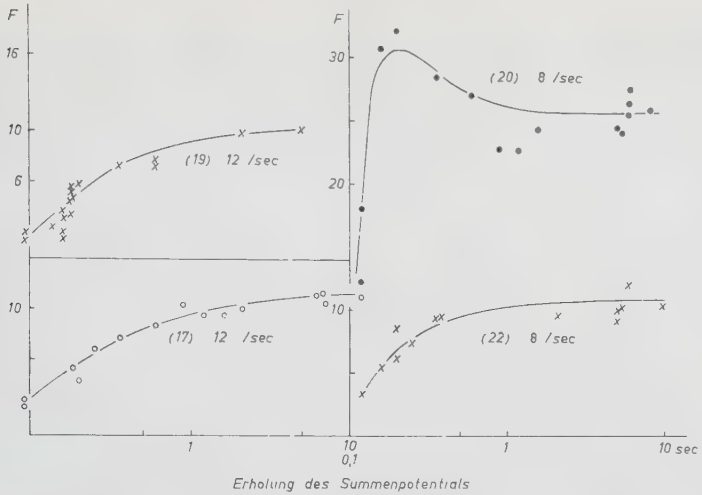


Abb. 17. Zunahme der Potentialfläche (F) nach Dauerreizende (Erholung). Einzelreize im Abstand von 0,12 bis etwa 10 sec nach Dauerreizende liefern die Flächenwerte des Potentials eines sich erholenden Nerven. Die Fläche wächst in den Versuchen 17, 19 und 22 nach Ende der frequenten Reizserie kontinuierlich an und ist nach etwa 2 sec maximal. Die angegebene Frequenz (8 und 12 sec) ist die Reizfrequenz der vorhergegangenen Reizfolge. In Versuch 20 ist das Potential 120 bis 420 msec nach Dauerreizende vergrößert gegenüber dem etwas kleineren konstanten Wert, der sich wenige Sekunden später eingestellt hat

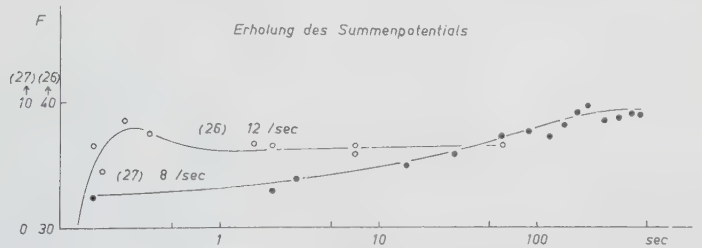


Abb. 18. Zunahme der Potentialfläche (F) nach Dauerreizende (Erholung). In wenigen Versuchen ist die Erholung erst nach 2 min beendet, die Potentialfläche wieder maximal (Versuch 27, gefüllte Kreise). In Versuch 26 ist die Potentialfläche dagegen 150—400 msec nach Dauerreizende größer als einige Sekunden später. Diese von Nerv zu Nerv so unterschiedliche Erholungsdauer steht wahrscheinlich nicht in Zusammenhang mit der Frequenz der vorangegangenen Reizserie, die ebenfalls angegeben ist (8 und 12/sec)

herzustellen (Abb. 9, Versuch 18 und Abb. 18, Versuch 27). Solche Nerven erholen sich also ungewöhnlich langsam. Es ist bemerkenswert, daß in einem dieser Versuche auch die Ermüdung sehr rasch und ohne vorhergehende Zunahme der Potentialfläche einsetzte (Abb. 9).

Schließlich gibt es Nerven, bei denen die Potentialfläche in der Erholungsphase zunächst besonders stark anwächst, um danach wieder abzusinken und ein neues Niveau zu erreichen. Die Zeitspanne, in der sie verstärkt ausgebildet wird, beträgt 120 –400 msec (Abb. 17, Versuch 20 und Abb. 18, Versuch 26). Der Gipfelpunkt ist 150 msec nach

Dauerreizende erreicht. Diese Erscheinung kann sowohl nach Reizung mit 8/sec wie mit 12/sec auftreten. Auch bestehen offenbar keine Beziehungen zur Länge des vorangegangenen Dauerreizes (10 und 20 min).

e) Abnahme der Leitungsgeschwindigkeit bei Dauerreiz. Das Summenpotential setzt sich aus den Aktionspotentialen von Einzelfasern mit ungleicher Erregungsleitungsgeschwindigkeit zusammen. In einigem Abstand vom Reizort besitzt es daher mehrere Gipfel. Man kann fragen, ob ihr Abstand vom jeweiligen Reizende von der Dauer der vorangegangenen Reizfolge beeinflußt wird. Zwei typische Ergebnisse sind in Abb. 19 dargestellt.

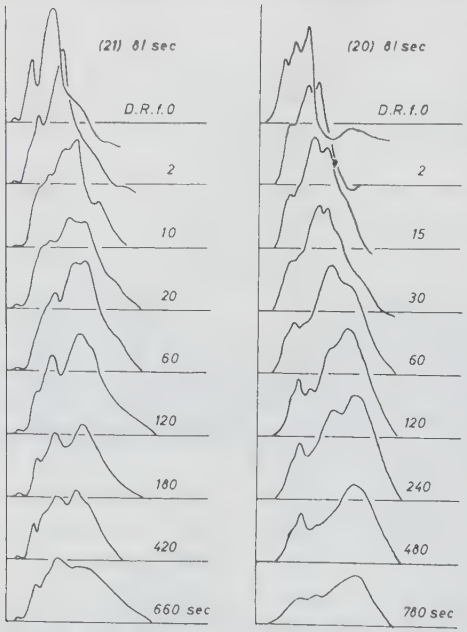


Abb. 19. Das Summenpotential bei Dauerreiz. Die Fläche des Summenpotentials nimmt zu bei Dauerreizbeginn und nimmt dann ab. Auch die Potentialform unterliegt gesetzmäßigen Veränderungen: die einzelnen Gipfel erscheinen zunehmend später, um so mehr, je langsamer die zugehörige Fasergruppe leitet. Nicht alle Gipfel lassen sich während der ganzen Versuchsdauer verfolgen (Versuch 20)

Übereinstimmend zeigt sich, daß die Gipfel spät gemessener Potentiale nach rechts verschoben sind. Außerdem beginnen die letzten Potentiale einer Serie später als die ersten Potentiale. Schließlich besitzen spät registrierte Potentiale mitunter mehr Gipfel als das erste Potential (Abb. 19, Versuch 20 und 21 nach 0 sec und 120 bzw. 180 sec Dauerreiz; Tabelle). Offenbar können sich, wenn der Dauerreiz nicht zu lange währt, vorübergehend neue Maxima aus dem Summenpotential herausdifferenzieren.

Trägt man den Abstand der verschiedenen Gipfel vom Reizende so in eine Tabelle ein, daß Gipfel ungefähr gleichen Abstandes von der Ordinate untereinander stehen, dann zeigt sich, daß die Laufzeit der zugehörigen Erregungswellen mit zunehmender Reizdauer wächst (Tabelle).

Die hier vermessene Zeitspanne umfaßt die Latenzzeit zwischen Reiz und Erregung unter der Reizelektrode, den Quotienten $t = s/v$ (t = Zeit; s = Weg, konst.; v = Geschwindigkeit) für die jeweiligen Fasergruppen sowie die Eigenschaften etwa zwischengeschalteter Verzögerungsglieder.

Sie soll, etwas ungenau, mit Latenzzeit bezeichnet werden. Die Meßwerte streuen verhältnismäßig stark, da die Gipfelpunkte der Potentiale nur selten spitz genug sind. Immerhin läßt sich der Tabelle entnehmen, daß die relative Zunahme der Latenzzeit bei langsamen Elementen größer ist als bei schnellen. Setzt man z. B. die Latenzzeit bei Dauerreizbeginn gleich 100%, dann ist sie nach 6 min Dauerreiz (8/sec) für die schnellste Fasergruppe auf etwa 130%, für die langsamste auf über 200% angestiegen. Diese Erscheinung ist für den Nervus intestinalis typisch.

Tabelle. *Versuch 20*

D. R. f. (sec)	Die Lage der Gipfel (Relativmaß)						
0	10,6			14,1	20,2		
0,12	10,5			16,6	21,5		27,8
7	10,8		14,0	18,7	23,3		29,3
15	(10,7)	12,1	14,9	20,4	26,4		34,3
20	11,0	12,7	16,3	22,9	26,0	30,0	37,9
30		13,4	17,3	23,5	28,3	33,3	42,1
60	11,6	14,4				37,6	
90	11,8	14,8	18,8	26,2	31,4		43,1
120	12,2	15,5	19,9	27,5	34,0		
180	13,1	16,9	21,4	28,9	36,7		
210	13,2	17,0	21,9	29,3	39,0		
240	13,5	17,6	22,1	29,6	37,7		
300	13,2	16,4	22,8				
390	13,5	16,8	22,4				
480	12,9	17,3					
780	13,6	17,5					

(D. R. f.) Dauerreiz für (in sec).

Die Latenzzeit strebt einem Grenzwert zu (Abb. 20). Er ist für alle Fasergruppen etwa 4 min nach Beginn des Dauerreizes (8/sec) erreicht.

Aus dieser Beobachtung darf man nicht schließen, daß ganz generell sämtliche Elemente während eines Dauerreizes zunehmend langsamer leiten oder am Reizort verzögert erregt werden. Eine Verschiebung der Gipfel würde vielmehr schon zustande kommen, wenn nur ein

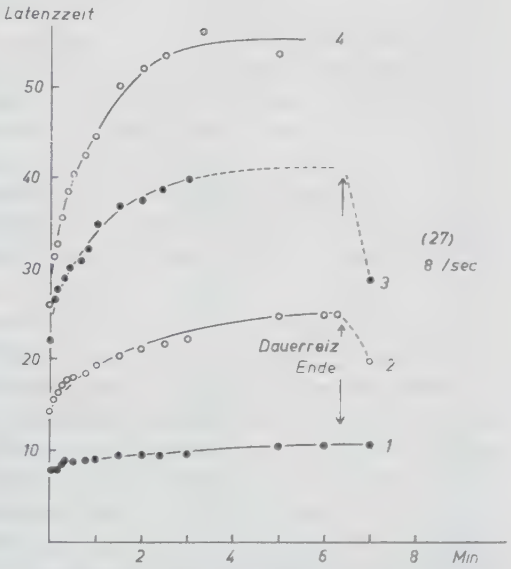


Abb. 20. Die Lage der Gipfel eines Summenpotentials während einer frequenten Reizserie. Ein Summenpotential hat mehrere Gipfel, die sich während eines frequenten Dauerreizes (8/sec) verschieben und zunehmend später erscheinen. Die Vergrößerung der Latenz (Ordinate) steigt mit wachsendem Abstand der Gipfel vom Nullpunkt. Die Verzögerung ist nach 4—5 min maximal und geht nach Dauerreizende (s. *Pfeile*) wieder zurück

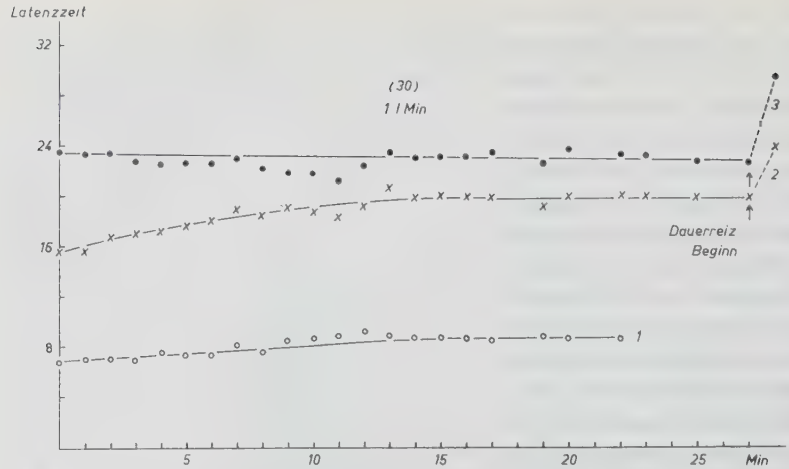


Abb. 21. Die Lage der Gipfel eines Summenpotentials bei Reizung mit 1/min. Bei einer Reizfrequenz von 1/min verzögern sich die einzelnen Maxima eines Summenpotentials weniger als bei der hochfrequenten Reizfolge (8/sec), die sich anschließt (Pfeile „Dauerreizbeginn")

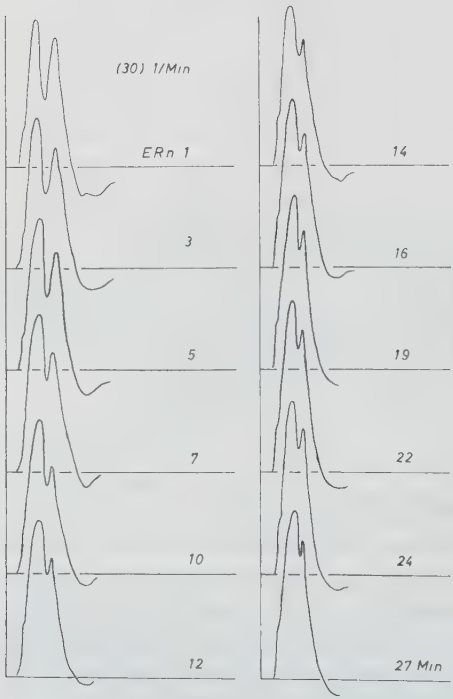


Abb. 22. Die Summenpotentiale während einer Reizfrequenz von 1/min. Auch bei einer Reizfrequenz von 1/min ändert sich die Form des Summenpotentials (vgl. mit Abb. 21)

Teil der Elemente reizbedingt langsamer arbeitete.

Die Verzögerung, mit der die Gipfelpunkte des Summenpotentials im Laufe des Versuches erscheinen, rührt ausschließlich vom Dauerreiz selbst her. Denn nach einer Erholungszeit von nur einer Minute hat die Latenzzeit schon wieder beträchtlich abgenommen; die Ausgangssituation ist nach dieser Zeit allerdings noch nicht erreicht (Abb. 20, Meßpunkte rechts von den Pfeilen „Dauerreizende"). Auch deshalb also gewinnt ein Summenpotential seine alte Form nicht so bald zurück.

Da die Fläche des Summenpotentials bei Reizung mit 1/min in vielen Fällen gleich groß bleibt (Ausnahme vgl. Abb. 14, Versuch 32), sollten

sich auch die Latenzzeiten seiner Gipfel nicht verändern. Das trifft im einzelnen nicht zu. So bleibt zwar die Latenzzeit der langsamen Elemente nahezu konstant, die der schnellsten dagegen nimmt ein wenig, die der mittelschnellen Elemente verhältnismäßig stark zu (Abb. 21, Abb. 22). Erst 10 min nach Reizbeginn stellt sich ein neues Niveau ein (Abb. 21). Beginnt dagegen nach 28 Reizen im Abstand von 1 min der Dauerreiz mit 8 sec, so verschieben sich die Maxima sofort wieder in der bereits erörterten Weise (Abb. 21).

D. Diskussion

Der Nervus intestinalis hat folgende physiologischen Eigenschaften:

a) Während einer frequenten Reizserie nimmt die Fläche des Summenpotentials zunächst zu, danach, in einer Phase der Ermüdung, ab. Dabei erscheint die Erregungswelle zumindest einiger Fasergruppen zunehmend später unter der Ableitelektrode: Ihre Latenzzeit wächst. Sie strebt einem Grenzwert zu. Schließlich fällt ein Teil der Fasern für die Erregungsfortleitung aus.

b) Während der frequenten Reizserie können ganze Gruppen von Elementen sporadisch (in unregelmäßigen Abständen) oder rhythmisch (in regelmäßigem Wechsel, etwa auf jeden dritten Reiz) antworten.

c) Nach Dauerreizende regeneriert das Summenpotential im allgemeinen sehr rasch. Innerhalb weniger Sekunden stellt sich der neue Endwert der Potentialfläche ein. Die Latenzzeit verringert sich jedoch nicht in demselben Maße. Die ursprüngliche Form des Summenpotentials wird deshalb vorerst nicht wieder ausgebildet.

d) Während Reizung in Minutenabständen bleibt bei manchen Nerven die Fläche des Summenpotentials und die Lage der Maxima einigermaßen konstant. Bei anderen Nerven nimmt auch jetzt noch die Fläche zu oder ab, und die Latenzzeit einiger Fasergruppen ändert sich.

1. Zunahme der Potentialfläche zu Beginn der Reizserie. Summation

Die Fläche des Summenpotentials, das von einem Faserbündel abgeleitet wird, hängt zunächst von der Reizstärke ab. Erst wenn der Reiz für alle Fasern überschwellig geworden ist, wird die Erregung maximal. Weitere Vergrößerung der Reizspannung ist wirkungslos.

Vor jedem Dauerreizversuch wurde die maximale Reizstärke ermittelt und eingestellt. Dennoch nimmt die Fläche des Summenpotentials zu, sofern mehrere Maximalreize rasch aufeinanderfolgen (Abb. 8, 13, 14). Zwischen Reiz- und Ableitort müssen mithin zusätzliche Elemente aktiviert worden sein. Offenbar addiert sich die Wirkung mehrerer in kurzen Abständen aufeinanderfolgender Reize in einem Teil der Fasern.

Das wäre möglich, wenn solche Fasern Synapsen enthielten, die einen einzelnen Impuls blockierten, zwei oder mehr mit kurzem Abstand

aufeinanderfolgende Impulse jedoch mit einem vergrößerten postsynaptischen Potential und einer fortgeleiteten Erregung beantworteten. Das postsynaptisch registrierte Summenpotential, gemessen am ganzen Nerven, wäre dann um den Betrag dieser Erregung größer.

Diese Erscheinung wäre mit zeitlicher Summation an erregenden Synapsen vergleichbar (ECCLES 1957). Zum Wachstum der Potentialfläche könnte jedoch auch eine räumliche Summation an Synapsen beitragen, die erst nach zeitlicher Summation vorgeschalteter Elemente aktiv werden.

2. Abnahme der Potentialfläche, Ermüdung

Schon bei relativ niedrigen Reizfrequenzen von 4—12/sec sinkt die Potentialfläche im allgemeinen innerhalb der ersten Minute des Dauerreizes unter den Ausgangswert (Abb. 8, 9, 13, 14). Für diese Erscheinung gibt es mehrere Deutungsmöglichkeiten:

a) Die Höhe eines jeden Aktionspotentials nimmt mit zunehmender Reizdauer ab, weil Fasern an $Na^{\cdot}$ angereichert werden und an $K^{\cdot}$ verarmen.

b) Ein Teil der Fasern wird refraktär, weil die Reizfrequenz zu hoch ist.

c) Auf Grund der Ermüdung von zwischengeschalteten Synapsen fällt nach und nach ein wachsender Prozentsatz fortgeleiteter Potentiale aus.

Zu a: Es ist sehr unwahrscheinlich, daß schon $12 \times 60 = 720$ Erregungswellen (= 1 min Dauerreiz) genügen, um die Ionenkonzentration merklich zu verschieben. ERLANGER und GASSER erhielten diese Art von Ermüdung erst nach halbstündigem Reizen von (allerdings myelinisierten) Vertebratenfasern mit etwa 1000/sec.

Zu b): Nervenfasern werden refraktär, wenn der Reizabstand geringer wird als der doppelte Wert der Anstiegszeit des Aktionspotentials. Der N. phrenicus der Katze wird beispielsweise partiell refraktär, wenn mit 1075/sec gereizt wird (ERLANGER und GASSER 1937). Die relative Refraktärzeit ist länger; sie wurde am Nervus intestinalis von *Helix* zu weniger als 40 msec bestimmt (KRIJGSMAN 1941). Wenn hier die Reize in Abständen von 80 oder gar 250 msec folgen (Reizfrequenz 12 oder 4/sec), kann die Refraktärzeit keinen Einfluß haben, denn das gesamte Summenpotential ist reizortnah kürzer als 60 msec (SCHLOTE 1955). Das würde einer Reizfrequenz von 16/sec entsprechen. Damit stimmt überein, daß bei keinem der hier registrierten Potentiale der Folgereiz in die absteigende Phase des Summenpotentials fiel.

Zu c): Synapsen ermüden schneller als die Höhe des Aktionspotentials von Nerven- oder Muskelfasern abnimmt (NACHMANSOHN 1959). Ursache der synaptischen Ermüdung ist Erschöpfung des präsynaptischen Trans-

mittervorrates (Rosenblueth et al. 1939, Eccles 1961). Sie äußert sich in einer sukzessiven Abnahme der Fläche des Summenpotentials, das von einem solchen Nervenplexus abgeleitet wird, wenn mehrere Synapsen nacheinander für die Erregungsübertragung ausfallen (Turner und Nevius 1951, Prosser 1946, Horridge 1958). Gerade das entspricht den Befunden. Auch die Vergrößerung des Summenpotentials in den ersten Sekunden nach Reizbeginn kann nur durch die Annahme, daß der Nerv Synapsen enthält, befriedigend erklärt werden (vgl. S. 507).

Es gibt Nerven, deren Summenpotential bald nach Reizbeginn in regelmäßigem Wechsel fluktuiert (Abb. 10, 11, 12). In einigen Fällen wird sogar nur jeder 5. oder 6. Reiz beantwortet, wie sich durch Auszählen am Bildschirm ermitteln ließ. Solche periodischen Schwankungen können bei konstanter Reizfrequenz minutenlang anhalten. Nun weiß man, daß sich die Wirkung mehrerer Reize auch an ermüdeten Synapsen summieren kann (Wiersma und Turner 1951, Bullock und Turner 1950, Turner 1953, Bishop et al. 1959). Würden mehrere Fasergruppen so erregt, daß ihre Synapsen gleichsinnig ermüden, dann müßten nach einigen Sekunden die Potentiale immer noch periodisch zu- und abnehmen, sich aber die Länge der Periode mit zunehmender Reizdauer (Ermüdung) vergrößern, bis schließlich mehr und mehr postsynaptische Fasern ausfallen. Ein entsprechendes Ergebnis liegt nicht vor, da nicht gefilmt werden konnte. Das meist unregelmäßige, minutenlange Fluktuieren läßt sich so jedenfalls nicht erklären. Dagegen wäre es möglich, daß sich im Zuge der Ermüdung einmal ein Zeitpunkt einstellte, wo die Überträgereigenschaften von einem Teil der Synapsen gerade soweit verändert sind, daß sie erst auf jeden 3.—6. Reiz hin antworten. Dann müßte von hier an das Summenpotential für eine Zeit fluktuieren. Vielleicht läßt sich auf ähnliche Weise die Kurve Abb. 10, Versuch 26 erklären.

Eine andere Deutung wäre, daß es Synapsen gibt, welche die auf der einen Faser ankommende Erregung auf mehrere Elemente verteilen. Würden solche Synapsen zeitlich summieren, so muß die postsynaptisch fortgeleitete Gesamterregung ebenfalls fluktuieren.

Betrachtet man daraufhin Abb. 12, bei der sich die Potentialfläche von Reiz zu Reiz um die Hälfte verändern kann, so folgt, daß dann sehr viele Elemente postsynaptisch zusammengeschaltet sein müssen.

3. Veränderungen in der Form des Summenpotentials bei Dauerreiz

Gleichzeitig mit der Abnahme der Fläche verändert sich auch die Form des Summenpotentials (Abb. 12, 15). Seine Gipfel treten zunehmend später hervor (Abb. 19, 20). Auch diese Erscheinung gehört zu den Vorgängen, die man bei der Ermüdung von Synapsen beobachtet hat (Turner 1953, Hugelin und Bonvalet 1957). Denn bevor eine

erregende Synapse die Übertragung blockiert, wird der postsynaptische Impuls mit wachsender und schließlich maximaler Verzögerung ausgelöst (BULLOCK 1946, 1948a, b). Würde sich dieser Befund auf den N. intestinalis übertragen lassen, so müßte zunächst die Latenzzeit anwachsen, danach die Fläche des Summenpotentials abnehmen. Das ist offenbar der Fall. So zeigt z. B. die Abb. 20 (Versuch 27), wie die Latenzzeit zunimmt. Gleichzeitig wächst auch die Potentialfläche (Abb. 10, Versuch 27), um anschließend, nachdem die Latenzzeit maximal geworden ist, stark abzusinken.

Die Ergebnisse gestatten nicht, auf die absolute Zahl der Synapsen zwischen Reiz- und Ableitort zu schließen. Dennoch erlauben sie gewisse Überlegungen: Nimmt die Fläche des Summenpotentials bis auf 20% des Ausgangspotentials ab und erscheinen alle Gipfelpunkte des Potentials mit wachsender Reizdauer zunehmend später, so müssen die meisten Fasern, ausgenommen vielleicht die schnellsten Elemente, im untersuchten Abschnitt des Nerven mindestens eine Synapse enthalten. Außerdem erleiden die langsamen Erregungswellen eine weit größere Verzögerung als die schnellen. Das spricht für mehrere hintereinander geschaltete Synapsen in ihren Leitungsbahnen. Denn dann kann ein postsynaptischer Impuls, der bereits an der ersten ermüdeten Synapse verzögert ausgebildet wurde, an der zweiten Synapse abermals verzögert werden. Am Ableitort würden sich beide Verzögerungen addieren. Man wird daher annehmen müssen, daß die langsam leitenden Elemente mehr als eine Synapse enthalten.

4. Die Erholung des Nerven nach Ende des Dauerreizes

Wenige Sekunden nach Dauerreizende erreicht die Potentialfläche im allgemeinen wieder ihren Ausgangswert, der Nerv scheint erholt. Fasern, die während der Reizserie ausfielen, sind offenbar wieder aktiv. Es fällt aber auf, daß die ursprüngliche Form des Summenpotentials nicht regeneriert wird (Abb. 12, 15). Die Lage der Gipfel zueinander bleibt noch längere Zeit nach Dauerreizende (mindestens für 1 min, Abb. 20) verändert, die Verschiebung geht also nur sehr langsam zurück. Selbst nach einer Minute hat sich der Nerv nicht vollkommen erholt. Nach einer Ruhepause von 5 min dagegen ist die Erholung weiter fortgeschritten (Abb. 16, *ER* nach 300 sec).

Wäre eine lange Refraktärzeit die Ursache für die Abnahme der Potentialfläche gewesen, so müßte man nach Ende der relativen Refraktärzeit (d.h. schon 40 msec nach Dauerreizende) die ursprüngliche Form des Summenpotentials zurückerhalten. Wurden dagegen Synapsen ermüdet und verarmten sie an Transmitter, so muß dieser erst wieder ersetzt, d.h. nachgebildet werden (ROSENBLUETH et al. 1939, PATON 1963, ECCLES 1964). Es ist aber unwahrscheinlich, daß die gesamte Menge des ver-

brauchten Transmitters sich innerhalb weniger Sekunden erneuern kann. Dies würde erklären, warum eine zweite Reizserie das Präparat sehr viel schneller ermüdet als einen frisch isolierten Nerven (Abb. 16).

In einigen Versuchen ist die Fläche des Summenpotentials während der ersten 200—400 msec der Erholungsphase vergrößert. Wenige Sekunden später stellt es sich auf ein etwas geringeres Niveau ein (Abb. 17, 18). Setzt man voraus, daß der Nerv Synapsen enthält, so geben die Befunde von Fessard und Tauc (1958: *Aplysia*-Ganglienzellen), Hughes (1958), Curtis und Eccles (1960) und Eccles (1961) eine Erklärung: Diese Autoren fanden, daß das postsynaptische lokale Potential (EPSP) einer erregenden Synapse für kurze Zeit nach einem vorhergehenden frequenten Dauerreiz vergrößert ist. Sie sprachen von posttetanischer Verstärkung.

5. Das Summenpotential bei der Reizfrequenz 1/min

Fläche und Form des Summenpotentials verändern sich auch dann, wenn mit einer Frequenz von 1/min gereizt wird (Abb. 13, 14, 21, 22). Es hat den Anschein, als würde jede Reizantwort durch die vorangegangene Erregung mitbestimmt. Diese Erscheinung läßt sich durch eine langdauernde Wirkung von Transmitter-Substanzen am besten erklären. Denn es ist bekannt, daß Transmitter-Substanzen gerade im Nervensystem von Gastropoden ungewöhnlich lange auf die postsynaptische Membran einzuwirken vermögen (mehrere Sekunden: Tauc 1955a, b, 1959). Eine Mikroinjektion von Transmitter in Ganglienzellen wirkt sogar über mehrere Minuten nach (Tauc und Bruner 1963).

6. Schlußfolgerung aus den elektrophysiologischen Versuchen

Die Ergebnisse aus den elektrophysiologischen Experimenten lassen insgesamt gesehen nur die Erklärung zu, daß der Nervus intestinalis zwischen Reiz- und Ableitort Synapsen in großer Zahl enthält.

Zu Beginn einer Reizserie kommt es an einigen dieser Synapsen offenbar zu Summation (Abb. 8, 13, 14). Wegen ihrer starken Ermüdbarkeit übertragen sie mit rasch zunehmender Verzögerung (Abb. 19, 20), ehe sie die Impulsübertragung blockieren (Abb. 8, 9, 10, 11). Da die Latenzzeit der langsamen Fasergruppen stärker wächst als die der schnellen (Abb. 20), sollten die langsamen Elemente mehrere hintereinander geschaltete Synapsen enthalten. Die vollständige Erholung nimmt verhältnismäßig lange Zeit in Anspruch (Abb. 9, 15, 16, 17, 18). Die Potentialfläche hat zwar meist innerhalb weniger Sekunden den Ausgangswert erreicht, doch wird die Form des Summenpotentials nur sehr langsam regeneriert (Abb. 20). Vielleicht wird der verbrauchte Transmitter nicht so schnell oder nicht vollständig erneuert.

Einige Befunde deuten darauf hin, daß hier außerdem ein kompliziertes System synaptischer Verbindungen zwischen den Axonen vorliegt. So mögen Fasern gruppenweise zusammengeschaltet sein; denn die Potentialfläche kann von Impuls zu Impuls nahezu auf das Doppelte anwachsen (Abb. 12).

Demnach stellt der Nervus intestinalis ein kompliziertes Nervennetz dar und ist kein „peripherer Nerv" im strengen Sinne (BUDDENBROCK 1953). Er enthält Nervenzellen, deren Axone synaptisch miteinander in Verbindung treten.

7. Synapsen und synaptische Grana im Nervus intestinalis

Das Nervensystem von *Helix* und *Aplysia* besitzt ausschließlich axon-axonische Synapsen (GERSCHENFELD 1963; *Aplysia:* TAUC und BRUNER 1963). Strukturen, die aller Wahrscheinlichkeit nach Synapsen darstellen, zeigen die Abb. 2, 3, 4, 6a, b.

Für Synapsen charakteristisch ist eine präsynaptische Ansammlung sogenannter „synaptic vesicles". Das sind membranumgrenzte Bläschen von rund 500 AE Durchmesser (PALAY 1956, 1958, DE LORENZO 1959, 1960; GRAY 1962, WHITTAKER und GRAY 1962, ECCLES 1964). Solche Bläschen enthalten, zumindest in einigen Fällen, Acetylcholin als synaptischen Transmitter (s. bes. WHITTAKER et al. 1964). Man trifft sie vornehmlich gegenüber spezifisch gebildeten Membranabschnitten (PALAY 1958, GRAY 1962, BIRKS et al. 1960). Prä- wie postsynaptische Membranen sind an solchen Stellen, die man für die aktiven Zonen in der synaptischen Übertragung hält, verdickt.

Von diesem bei Vertebraten und Arthropoden weit verbreiteten Synapsenbau unterscheiden sich die synapsen-ähnlichen Strukturen des *Helix*nerven in zweifacher Hinsicht:

1. Prä- und postsynaptische Membranen sind strukturell nicht von den übrigen Membranen der Axone zu unterscheiden. Damit stimmt überein, daß bei Gastropoden auch in physiologischen Versuchen keine spezifisch auf Transmitter eingestellten Membranabschnitte gefunden wurden (TAUC und GERSCHENFELD 1962, TAUC und BRUNER 1963).

2. Ansammlungen von Bläschen, die den „synaptic vesicles" ähneln, findet man im Nervus intestinalis sehr selten (wie z. B. in Abb. 5). Wo sie vorkommen, ist die Bläschen-Membran so dick wie die Zellgrenzmembran (SCHLOTE und HANNEFORTH 1963). Es ist daher wahrscheinlich, daß diese Bläschen aus Abfaltungen der Zellgrenzmembran entstanden sind (s. hier: Abb. 6b: *T*). Sehr häufig sind dagegen in solchen Axonen, die andere Axone direkt berühren, Ansammlungen neurosekretartiger Grana (Größe etwa 1500 AE; Abb. 2, 3, 4, 6a, b). Wenn diese Grana den chemischen Transmitter enthielten, wären dies die Synapsen des Nerven. Für eine solche Annahme gibt es mehrere Argumente:

a) Die Wirkung des Transmitters (meist Acetylcholin) sinkt in Synapsen und Muskelendplatten von Wirbeltieren, in Synapsen von Krebsen oder Tintenfischen meist innerhalb weniger msec ab, überdauert aber in keinem bekannten Fall $^1/_{10}$ sec (Eccles 1964, S. 42). Wenn am Nervus intestinalis noch bei Reizfrequenzen von 8 und 4/sec zeitliche Summation auftritt, so bedeutet dies, daß die lokale postsynaptische Erregung und damit die Wirkung des Transmitters (Eccles 1964) mindestens $^1/_4$ sec anhalten muß. Eine ähnlich lange andauernde Wirkung des Transmitters ist bisher nur an Ganglienzellen von *Aplysia* festgestellt worden (Eccles 1964 a. a. O.). Dort klingt das lokale postsynaptische Potential erst nach einigen Sekunden ab (Tauc 1955a, b). Solch ein Vorgang ließe sich verstehen, wenn jeweils eine große Transmittermenge auf einmal auf die postsynaptische Membran einwirkte. Die erforderliche Menge könnte aus den rund 1500 AE großen neurosekretartigen Grana freigesetzt werden.

b) In den Nerv-Muskel-Verbindungen von *Helix* (Schlote 1963, 1964), in den zentralen Ganglienzellen der Weinbergschnecke (Gerschenfeld 1963) und in einigen zentralen Synapsen von *Octopus* (Gray und Young 1964) haben ähnliche Grana offenbar ebenfalls die Funktion synaptischer Grana.

c) Die neurosekretartigen Grana öffnen sich zum zwischenzelligen Raum, sobald ihre Membran mit der Zellgrenzmembran verschmilzt (Abb. 6b). Damit könnte die Granasubstanz (als Transmitter) freigesetzt werden und auf die postsynaptische Membran einwirken. Ganz entsprechend sollen auch die klassischen „synaptic vesicles" ihren chemischen Transmitter in den synaptischen Spalt entlassen (Eccles 1964, S. 188). Die elektronenmikroskopischen Befunde dafür sind allerdings noch wenig überzeugend (De Robertis und Bennett 1955, De Robertis 1959).

d) Acetylcholin wirkt in den Synapsen von *Helix* wahrscheinlich nur als hemmender Transmitter (Kerkut und Thomas 1963a, b, 1964). Als chemischer Überträger erregender Synapsen von Lamellibranchiaten und Gastropoden wird vornehmlich Serotonin (= 5-Hydroxytryptamin) genannt (Welsh und McCoy 1957, Welsh 1961, Gerschenfeld und Tauc 1961, Koshtoyants und Rózsa 1961, Koshtoyants et al. 1961, Loveland 1963, Lábos et al. 1964). Es ist im Nervensystem von Mollusken — auch speziell von Pulmonaten, insbesondere von *Helix* — mehrfach nachgewiesen worden (Meng 1960a, b; Welsh und Moorhead 1959, 1960; Welsh 1961). Vermutlich ist Serotin an anders geformte synaptische Grana gebunden als Acetylcholin (s. auch Ryall 1964).

e) Es gibt noch einen weiteren, allerdings mehr indirekten Hinweis dafür, daß die neurosekretartigen Grana an der Erregungsübertragung mitwirken. So ist die Ermüdbarkeit des N. intestinalis von Tier zu Tier

sehr verschieden (Abb. 8, 9, 10, 13). Auch die Erholungszeiten der ermüdeten Nerven variieren sehr stark (s. bes. Abb. 18). Andererseits ist bekannt, daß der Gehalt an neurosekretartigen Stoffen bei *Helix* starken tages- und jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen sein kann (Krause 1960, Jungstand 1962). Dies könnte mit der unterschiedlichen Aktivität der Tiere in Zusammenhang stehen. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen ergaben, daß auch die Nervi intestinales verschiedener Tiere sehr ungleiche Mengen an neurosekretartigen Substanzen enthalten können (Abb. 7a, b). Wenn die fluoreszierenden Grana den Transmitter enthielten, würden die Schwankungen in der Granakonzentration die großen Unterschiede in den physiologischen Reaktionen der Tiere hinreichend erklären. Paralleluntersuchungen an Nerven desselben Tieres stehen allerdings noch aus.

f) Transmitter übertragen die Erregung chemisch von Zelle zu Zelle. Neurosekrete sind dagegen Hormone, die wohl in Axonen fortgeleitet, dann aber ins Blut abgegeben werden. Das gilt für die neurosekretorischen Systeme von Vertebraten (Bargmann 1949, Bargmann et al. 1957, Sloper 1958, Hartmann 1958, Sano und Knoop 1959, Scharrer und Scharrer 1954a, b), Crustaceen (Holmes und Knowles 1960, Knowles 1961), Arthropoden (Nayar 1956, Meyer und Pflugfelder 1958, Willey und Chapman 1960, Schultz 1960), Anneliden (Hagadorn und Nishioka 1961, Otremba 1961, Hagadorn et al. 1963) und Gastropoden (Röhnisch 1964, Nolte 1964). Ein Nervenplexus wie der Nervus intestinalis kann aber nicht als ableitendes System für Neurosekrete gelten. Zudem werden die Stoffe aus den neurosekretartigen Grana hier nicht, wie es Nolte (1964) fordert, in das (offene) Blutgefäßsystem abgegeben, sondern in den interzellularen Raum an verschiedenen Stellen mitten im Nerven. Auch das spricht eher für eine humorale (Transmitter-) Wirkung als für eine hormonale, neurosekretartige Funktion dieser Substanzen.

Demnach dürften die Transmittersubstanzen für die Synapsen des Nervus intestinalis, die den elektrophysiologischen Befunden zufolge sehr zahlreich sein müssen, im wesentlichen an die neurosekretartigen Grana gebunden sein.

Ungeklärt ist, wo diese besondere Form von synaptischen Grana gebildet wird. Da die peripheren Nerven Plexus darstellen, können sie nicht ausschließlich in den Schlundmassen entstehen.

Zusammenfassung

1. Die Nervenfasern des Nervus intestinalis der Weinbergschnecke enthalten in großer Zahl Grana, die den Elementargrana der Neuro-

sekretion gleichen. Ihre Membran hat die Stärke der Zellgrenzmembran und kann mit ihr verschmelzen.

2. Die neurosekretartigen Grana oder aus ihnen zusammengesetzte Komplexe lassen sich fluoreszenzmikroskopisch nach Färben mit Diäthylpseudoisocyaninchlorid nachweisen. Ihre Konzentration in den Axonen kann von Tier zu Tier erheblich schwanken.

3. Reizt man den Nervus intestinalis von *Helix pomatia* über 5 –30 min mit 4—12 Rechteckimpulsen/sec (Impulsdauer 1 msec), dann nimmt das Summenpotential, das weiter caudal abgeleitet wird, zunächst zu, dann ab. Seine Fläche kann von Impuls zu Impuls stark fluktuieren. Gibt man 0,1—5 sec nach Beendigung des Dauerreizes einen Testreiz gleicher Größe, so zeigt sich, daß das Summenpotential während dieser Erholungsphase wieder anwächst, bis es etwa seine Ausgangsfläche erreicht hat. Bei Reizung mit einer Frequenz von 1/min verändert sich seine Fläche nur geringfügig.

In einigem Abstand vom Reizort besitzt das Summenpotential mehrere Maxima. Seine Gipfel erscheinen während eines Dauerreizes (4—12/sec, z.T. auch bei 1/min) zunehmend später.

Diese Befunde deuten darauf hin, daß der Nervus intestinalis zahlreiche Synapsen enthält; er stellt einen Plexus dar.

4. An manchen Berührungsstellen mit anderen Axonen ist die Konzentration neurosekretartiger Grana besonders hoch. Vieles weist darauf hin, daß es sich hier um die Synapsen handelt, deren erregender Transmitter an neurosekretartige Grana gebunden ist. Diese wären somit hier als synaptische Grana anzusehen.

Summary

1. Axons of the Nervus intestinalis of the snail *Helix pomatia* (L.) contain numerous granules, as seen on electronmicrographs. These resemble the elementary granules of neurosecretion. The width of their membrane is identical with that of the cell membrane. Sometimes both communicate.

2. The granules (or aggregations of them) may also be seen by means of fluorescence microscopy. Their concentration within the axons varies considerably between different individuals.

3. The gross action potential of the nerve, on repetitive stimulation with 4 to 12 rectangular pulses per second for periods from 5 to 30 minutes, first increases, then decreases. Its size, measured as the total area which it comprises above the baseline, may vary considerably from one stimulus to the next. After a tetanus the action potential increases to its initial size within 0,1 to 5 sec.

The gross action potential shows several peaks. Their latencies increase progressively in the course of repetitive stimulation. During stimulation with a frequency of 1/min the action potential shows only little variation.

The results indicate that the Nervus intestinalis contains numerous synapses.

4. The granules tend to be more numerous in the axoplasm, where two fibres touch. A number of indications are given that these points of contact are synapses, and that the neurosecretory-like granules are loaded with transmitter. Consequently they may be regarded as a special kind of synaptic granules.

Literatur

BARGMANN, W.: Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. Z. Zellforsch. **34**, 610—634 (1949).

— A. KNOOP u. A. THIEL: Elektronenmikroskopische Studie an der Neurohypophyse von *Tropidonotus natrix* (mit Berücksichtigung der Pars intermedia). Z. Zellforsch. **47**, 114—126 (1957).

BATHAM, E. J.: Infoldings of nerve fibre membranes in the Ophisthobranch mollusc *Aplysia californica*. J. biophys. biochem. Cytol. **9**, 490—492 (1961).

BAXTER, M. I., and R. H. NISBET: Relationships in the activity of the ganglia in the central nervous system of Gastropoda. Proc. I. Europ. Malacological Congr., London 1962.

BIRKS, R., H. E. HUXLEY, and B. KATZ: The fine structure of the neuromuscular junction of the frog. J. Physiol. (Lond.) **150**, 134—144 (1960).

BISHOP, P. O., W. BURKE, and W. R. HAYHOW: Repetitive stimulation of optic nerve and lateral geniculate synapses. Exp. Neurol. **1**, 534—555 (1959).

BUDDENBROCK, W. v.: Vergleichende Physiologie, Bd. II: Nervenphysiologie. Basel: Birkhäuser 1953.

BULLOCK, T. H.: A preparation for the physiological study of the unit synapse. Nature (Lond.) **158**, 555—556 (1946).

— Non-integrative synapses. Biol. Bull. **95**, 249 (1948a).

— Properties of a single synapse in the stellate ganglion of the squid. J. Neurophysiol. **11**, 343—364 (1948b).

—, and R. S. TURNER: Events associated with conduction failure in nerve fibers. J. cell. comp. Physiol. **36**, 59—81 (1950).

CURTIS, D. R., and J. C. ECCLES: Synaptic action during and after repetitive stimulation. J. Physiol. (Lond.) **150**, 374—398 (1960).

DONALDSON, P. E. K.: Electronic apparatus for biological research. London: Butterworths scientific publ. 1958.

ECCLES, J. C.: The physiology of nerve cells. Baltimore: John Hopkins Press 1957.

— The mechanism of synaptic transmission. Ergebn. Physiol. **51**, 299—430 (1961).

— The physiology of synapses. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964.

ERLANGER, J., and H. S. GASSER: Electrical signs of nervous activity. Philadelphia: University Press 1937.

FÄHRMANN, W.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen des Nervensystems von *Unio tumidus* (PHLIPSSON) unter besonderer Berücksichtigung der Neurosekretion. Z. Zellforsch. **54**, 689—716 (1961).

Fessard, A., et L. Tauc: Effects de répétition sur l'amplitude des potentiels postsynaptique d'un soma neuronique. J. Physiol. (Paris) **50**, 277—281 (1958).

Gabe, M.: Sur quelques applications de la coloration par la Fuchsin-Paraldehyd. Bull. Micr. appl., Ser. II, **3**, 153—162 (1953a).

— Particularités morphologiques des cellules neurosécrétrices chez quelques *Prosobranches monotocardes*. C. R. Acad. Sci. (Paris) **236**, 323—325 (1953b).

Gerschenfeld, H. M.: Observations on the ultrastructure of synapses in some pulmonate molluscs. Z. Zellforsch. **60**, 258—275 (1963).

—, and L. Tauc: Pharmacological specifities of neurons in an elementary central nervous system. Nature (Lond.) **189**, 924—925 (1961).

Gray, E. G.: A morphological basis for pre-synaptic inhibition? Nature (Lond.) **193**, 82—83 (1962).

—, and J. Z. Young: Electron microscopy of synaptic structure of Octopus brain. J. Cell Biol. **21**, 87—103 (1964).

Hagadorn, I. R., H. A. Bern, and R. S. Nishioka: The fine structure of the supraesophageal ganglion of the *Rhynchobdellid leech*, Theromyzon Rude, with special reference to neurosecretion. Z. Zellforsch. **58**, 714—758 (1963).

—, and R. S. Nishioka: Neurosecretion and granules in neurons of the brain of the leech. Nature (Lond.) **191**, 1013—1014 (1961).

Hartmann, J. F.: Electron microscopy of the neurohypophysis in normal and histamine treated rats. Z. Zellforsch. **48**, 291—308 (1958).

Holmes, R. L., and F. G. W. Knowles: Synaptic vesicles in the neurohypophysis. Nature (Lond.) **185**, 710—711 (1960).

Horridge, G. A.: Transmission of excitation through the ganglia of Mya. J. Physiol. (Lond.) **143**, 553—572 (1958).

Hugelin, A., et M. Bonvallet: Etude oscillographique d'un réflexe. J. Physiol. (Paris) **49**, 210—211 (1957).

Hughes, J. R.: Post-tetanic potentiation. Physiol. Rev. **38**, 91—113 (1958).

Jungstand, W.: Untersuchungen über die Neurosekretion und deren Abhängigkeit von verschiedenen Außenfaktoren bei der Lungenschnecke *Helix pomatia* L. Zool. Jb. Abt. allg. Zool. u. Physiol. **70**, 1—23 (1962).

Karnovsky, M. J.: Simple methods for "staining with lead" at high pH in electron microscopy. J. biophys. biochem. Cytol. **11**, 729—732 (1961).

Kerkut, G. A., and R. C. Thomas: Acetylcholine and the spontaneous inhibitory postsynaptic potentials in the snail neurone. Comp. Biochem. Physiol. **8**, 39—45 (1963a).

— — Anion permeability of the inhibitory postsynaptic membrane of Helix neurones. J. Physiol. (Lond.) **168**, 23P—24P (1963b).

— — The effect of anion injection and changes in the external potassium and chloride concentration on the reversal potentials of the IPSP and acetylcholine. Comp. Biochem. Physiol. **11**, 199—214 (1964).

Knowles, F. G. W.: The ultrastructure of a Crustaceen neurohaemal organ. Neurosecretion, Proc. of the 3. Intern. Symp., Bristol 1961, p. 71—88. London and New York: Academic Press 1961.

Koshtoyants, C. S., G. A. Buznikov, and B. N. Manukhin: The possible role of 5-hydroxytryptamine in the motor activity of embryos of some marine gastropods. Comp. Biochem. Physiol. **3**, 20—26 (1961).

—, and K. Rózsa: Comparative pharmacological data on the effect of serotonine, noradrenaline and chlorpromazine on mollusc (*Helix pomatia*) ganglia. Acta physiol. Acad. Sci. hung. **19**, 189—197 (1961).

Krause, E.: Untersuchungen über die Neurosekretion im Schlundring von *Helix pomatia*. Z. Zellforsch. **51**, 748—776 (1960).

Krijgsman, B. J.: Elektrophysiologische Untersuchungen über das Nervensystem der Mollusken. Z. vergl. Physiol. **28**, 286—325 (1941).

Lábos, E., J. Sálanki, and K. S. Rózsa: Effect of serotonine and other agents on the rhythmic activity in the glochidia of fresh-water mussel (*Anodonta cygnea* L.). Comp. Biochem. Physiol. **11**, 161—172 (1964).

Lorenzo, A. J. de: The fine structure of synapses. Biol. Bull. **117**, 390 (1959).

— The fine structure of synapses in the ciliary ganglion chick. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 31—36 (1960).

Loveland, R. E.: 5-Hydroxytryptamine, the probable mediator of excitation in the heart of Mercenaria (Venus) mercenaria. Comp. Biochem. Physiol. **9**, 95—104 (1963).

Marmont, G.: Studies on the axon membrane. J. cell. comp. Physiol. **34**, 351—382 (1949).

Meng, K.: Untersuchungen zur Steuerung der Herztätigkeit bei *Helix pomatia*. Zool. Jb. Abt. allg. Zool. u. Physiol. **68**, 539—566 (1960a).

— Die Beeinflussung der Tätigkeit des Helix-Herzens durch das extracardiale Nervensystem. Zool. Jb. Abt. allg. Zool. u. Physiol. **68**, 567—576 (1960b).

Meyer, G. F., u. O. Pflugfelder: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Corpora cardiaca von *Carausius morosus* Br. Z. Zellforsch. **48**, 556—564 (1958).

Nachmansohn, D.: Chemical and molecular basis of nerve activity. New York and London: Academic Press 1959.

Nayar, K. K.: Studies on the neurosecretory system of *Iphita limbata Stal.* (Hemiptera). III: The endocrine glands and the neurosecretory pathways in the adult. Z. Zellforsch. **44**, 697—705 (1956).

Nolte, A.: Ultrastruktur des „Neurosekretmantels" des Nervus labialis medius von *Planorbis corneus* L. (Basommatophora). Naturwissenschaften **15**, 148 (1964).

Otremba, P.: Beobachtungen an neurosekretorischen Zellen des Regenwurmes (*Lumbricus spec.*). Z. Zellforsch. **54**, 421—436 (1961).

Palay, S. L.: Synapses in the central nervous system. J. biophys. biochem. Cytol., Suppl. **2**, 193—202 (1956).

— The morphology of synapses in the central nervous system. Exp. Cell Res., Suppl. **5**, 275—291 (1958).

Paton, W. D. M.: Cholinergic transmission and acetylcholine output. Canad. J. Biochem. **41**, 2637—2654 (1963).

Prosser, C. L.: The physiology of nervous systems of invertebrate animals. Physiol. Rev. **26**, 337—382 (1946).

Ripplinger, J.: Physiologie du coeur de l'Escargot. Exploration functionelle du nerf viscéral gauche son action sur l'oreillette et sur le ventricule. Interprétation de l'automatisme ventriculaire d'aprés les resultats obtenus. J. Physiol. (Paris) **43**, 853—855 (1951).

Robertis, E. D. P. de: Submicroscopic morphology of the synapse. Int. Rev. Cytol. **8**, 61—96 (1959).

—, and S. Bennett: Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earthworm. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 47—58 (1955).

Röhnisch, S.: Das neuroendocrine System der Cerebralganglien von *Planorbis corneus* L. (Basommatophora). Naturwissenschaften **51**, 147—148 (1964).

Rosenblueth, A., K. Lissák, and A. Linari: An explanation of the five stages of neuromuscular and ganglionic synaptic transmission. Amer. J. Physiol. **128**, 31—44 (1939).

Ryall, R. W.: The subcellular distribution of acetylcholine, substance P, 5-hydroxytryptamine, γ-aminobutyric acid and glutamic acid in brain homogenates. J. Neurochem. **11**, 131—146 (1964).

Sano, J., and A. Knoop: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am kaudalen neurosekretorischen System von *Tinca vulgaris*. Z. Zellforsch. **49**, 464—492 (1959).

Scharrer, E., u. B. Scharrer: Neurosekretion. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 6, Teil 5, S. 953—1066. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954a.

— — Hormones, produced by neurosecretory cells. Rec. Pap. in Hormon Res. **10**, 183—240 (1954b).

Schlote, F. W.: Die Erregungsleitung in Gastropodennerven und ihr histologisches Substrat. Z. vergl. Physiol. **37**, 373—415 (1955).

— Submikroskopische Morphologie der Gastropodennerven. Z. Zellforsch. **45**, 543—568 (1957).

— Neurosekretartige Grana in den peripheren Nerven und in den Nerv-Muskel-Verbindungen von *Helix pomatia*. Z. Zellforsch. **60**, 325—347 (1963).

— Die Muskulatur von *Helix pomatia* und ihre Innervation. Vortrag: Malakologen-Kongr., London 1964, im Druck.

—, u. W. Hanneforth: Endoplasmatische Membransysteme und Granatypen in Neuronen und Gliazellen von Gastropodennerven. Z. Zellforsch. **60**, 872—892 (1963).

Schneider, K. C.: Histologisches Praktikum der Tiere. Jena: Gustav Fischer 1908.

Schultz, R. L.: Electron microscope observations of the Corpora allata and associated nerves in the moth *Celerio lineata*. J. Ultrastruct. Res. **3**, 320—327 (1960).

Sloper, J. C.: Hypothalamo-neurohypophyseal neurosecretion. Int. Rev. Cytol. **7**, 337—389 (1958).

Sterba, G.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Neurosekretion beim Bachneunauge. Z. Zellforsch. **55**, 763—789 (1961).

— Neurosekretion im Zwischenhirn der Wirbeltiere. Forsch. Fortschr. dtsch. Wiss. **37**, 70—76 (1963).

—, u. K.-P. Wellner: Biochemische Korrelation der Pseudoisocyaninreaktion zum Nachweis von Neurosekret. Naturwissenschaften **50**, 334—335 (1963).

Tauc, L.: Réponse de la cellule nerveuse du ganglion abdominal d'Aplysia punctata activée par voie synaptique. J. Physiol. (Paris) **47**, 286—287 (1955a).

— Etude de l'activité élémentaire des cellules du ganglion abdominal de L'Aplysie. J. Physiol. (Paris) **47**, 769—792 (1955b).

— Interactions neuronales synaptiques et non synaptiques dans le ganglion abdominal de L-Aplysie. J. Physiol. (Paris) **51**, 570—571 (1959).

—, and J. Bruner: "Desensitization" of cholinergic receptors by acetylcholine in molluscan central neurones. Nature (Lond.) **198**, 33—34 (1963).

—, and H. M. Gerschenfeld: A cholinergic mechanism of inhibitory synaptic transmission in a molluscan nervous system. J. Neurophysiol. **25**, 236—262 (1962).

Turner, R. S.: Modification by temperature of conduction and ganglionic transmission in the gastropod nervous system. J. gen. Physiol. **36**, 463—471 (1953).

—, and D. B. Nevius: The organization of the nervous system of *Ariolimax Columbianus*. J. comp. Neurol. **94**, 239—256 (1951).

WELSH, J. H.: Neurohormones in molluses. Amer. Zool. **1**, 267—272 (1961).
—, and A. C. MCCOY: Actions of d-lysergic-acid-diethylamide and its 2-bromo-derivative on heart of *Venus mercenaria*. Science **125**, 348 (1957).
—, and M. MOORHEAD: Identification and assay of 5-hydroxytryptamine in molluscan tissues by fluorescence method. Science **129**, 1491—1492 (1959).
— — The quantitative distribution of 5-hydroxytryptamine in the invertebrates, especially in their nervous systems. J. Neurochem. **6**, 146—169 (1960).
WHITTAKER, V. P., and E. G. GRAY: The synapse: Biology and morphology. Brit. med. Bull. **18**, 223—228 (1962).
—, I. A. MICHAELSON, and R. I. A. KIRKLAND: The separation of synaptic vesicles from nerve-ending particles ("synaptosomes"). Biochem. J. **90**, 293—302 (1964).
WIERSMA, C. A. G., and R. S. TURNER: The interaction between the synapse of a single motor fibre. J. gen. Physiol. **34**, 137—145 (1951).
WILLEY, R. B., and G. B. CHAPMAN: The ultrastructure of the corpora allata in orthopteroid insects. J. Ultrastruct. Res. **4**, 1—14 (1960).

Dr. WOLFGANG HANNEFORTH
Zoologisches Institut der Universität
8 München 2, Luisenstraße 14

Lebenslauf:

Am 16. Juli 1936 wurde ich, Wolfgang Hanneforth, als Sohn des Prokuristen Gustav Hanneforth und seiner Ehefrau Elisabeth geb. Niederheidland in Gadderbaum bei Bielefeld geboren. Vom Herbst 1942 bis Ostern 1947 besuchte ich 5 Klassen der Volksschule, von Ostern 1947 bis zur Reifeprüfung im Februar 1956 das 9klassige Helmholtz-Gymnasium in Bielefeld.

Während der ersten 4 Semester meines Studiums (SS 1956 bis WS 1957/58) war ich an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz immatrikuliert und belegte die Fächer Biologie (Hauptfach), Chemie und Physik. Zum Sommersemester wechselte ich zur Georg-August-Universität nach Göttingen, um dort mein Studium in den genannten Fächern fortzusetzen.

Nach der bestandenen A-Prüfung des Staatsexamens (Philosophikum) im Sommersemester 1960 begann ich meine experimentellen Arbeiten am 1. Zoologischen Institut unter der wissenschaftlichen Anleitung von Privatdozent Dr. Schlote. Die Arbeit stand unter dem Thema: Struktur und Funktion von Synapsen und synaptischen Grana in Gastropodennerven.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Birukow danken für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Zoologischen Institut. Mein Dank gilt auch meinen akademischen Lehrern, den Herren Professoren: Ax, Birukow, Piepho, Mislin, Schaller; Firbas, Pirson, Troll, Weber; Brockmann, Deuticke, Glemser, Hollmann, Horner, Strassmann; Flammersfeld, Klumb und Meyer.

Größten Dank schulde ich Herrn Privatdozent Dr. Schlote, der mich in die elektronenmikroskopische und elektrophysiologische Untersuchungstechnik einführte, mir zu jeder Zeit in fördernden Aussprachen Rat und Hilfe erteilte und mir die Möglichkeit gab, zwei Arbeiten publizieren zu lassen:

1. Schlote, Fr. W. und W. Hanneforth: Endoplasmatische Membransysteme und Granatypen in Neuronen und Gliazellen von Gastropodennerven.
   Z. Zellforsch. *60*, 872-892 (1963)

2. Hanneforth, W.: Ermüdung und Erholung des Nervus intestinalis der Weinbergschnecke bei elektrischer Reizung.
   Zool. Anz. 28 Suppl. Bd., Verh. d. Deutschen Zoologischen Gesellschaft in Kiel 1964 (im Druck).